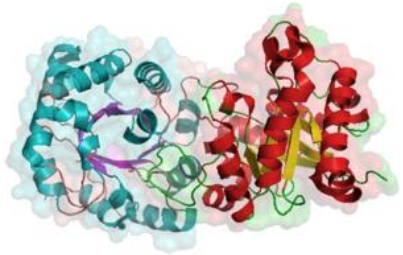
QUIZ



- Entregar DOS productos comerciales
- El tipo de molécula
- El fundamento de cómo funciona
- Referencias bibliográficas

- Fecha límite de entrega: martes 26 de agosto a la hora de la clase
- Es individual

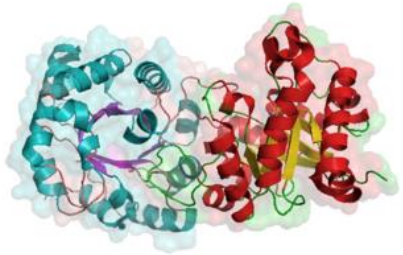
Enzimas, catalizadores biológicos

II Semestre, 2025

Dra. Carolina Centeno-Cerdas

TEC | Tecnológico de Costa Rica

Enzimas



- Generalmente son proteínas, que catalizan reacciones químicas siempre que sean termodinámicamente posibles
- Funcionan disminuyendo la energía de activación ($\Delta G‡$) para una reacción, así se acelera la tasa de la reacción
- No son consumidas por las reacciones que catalizan, ni alteran su equilibrio químico
- Difieren de otros catalizadores por su especificidad

Ribozimas

- Molécula de ARN con capacidad catalítica
- Normalmente solo actúan una vez y se destruye su actividad
- Muchas ribozimas son intrones con capacidad de autoprocesamiento
- Participan en el procesamiento o maduración del ARN y la síntesis de proteínas

Función

"Catalizadores típicos": aceleran una reacción *sin ser consumidas* en el proceso

- Sólo reacciones termodinámicamente posibles
- Las reacciones ocurren a velocidad compatible con la vida
- "Reciclaje" estructural de los agentes catalíticos (permite ahorrar energía)

Some Rate Enhancements Produced by Enzymes

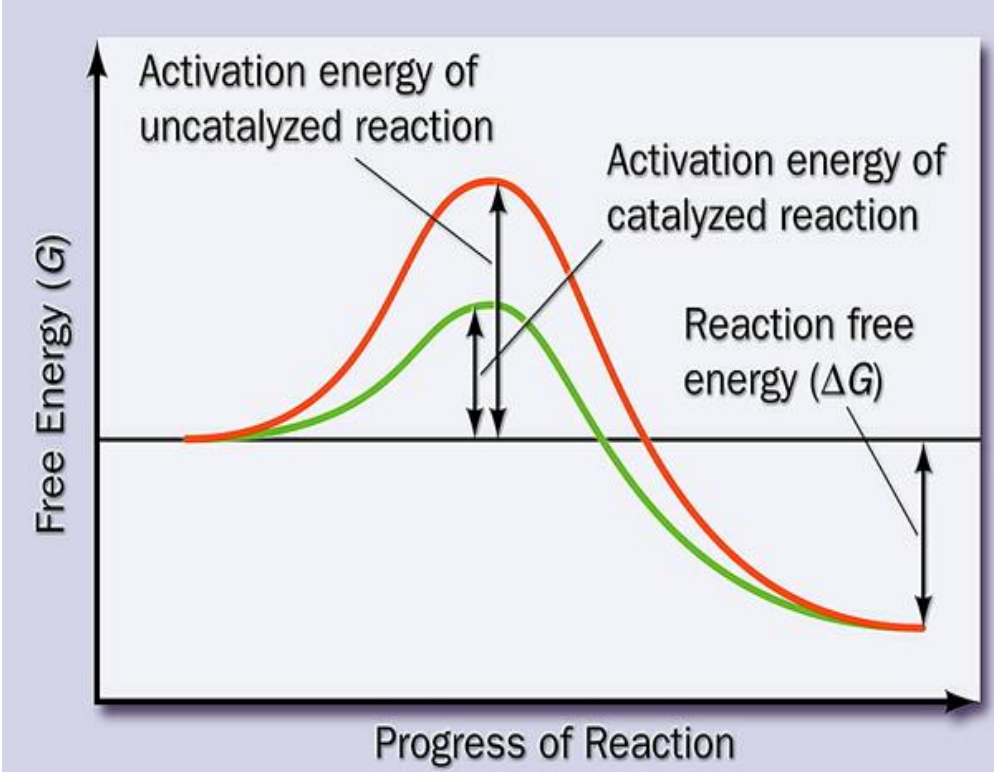
Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

Acción en las reacciones químicas

- Favorecen la interacción de los reactantes y disminuyen la energía de activación

- Energía de activación: *barrera energética*: energía necesaria para llevar un mol de reactantes hasta el estado de transición

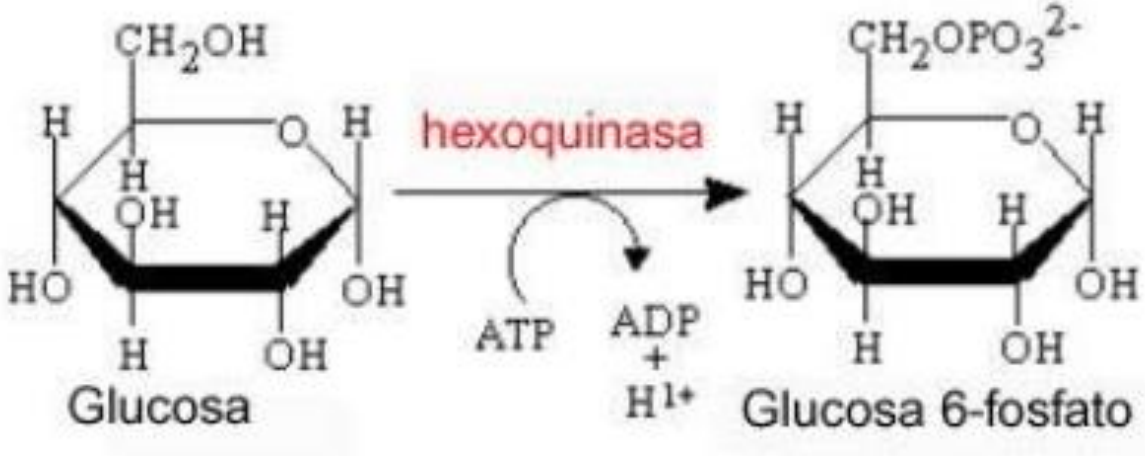
- Estado de transición: estado que posee mayor cantidad de energía libre que los reactantes y los productos



$$E+S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E+P$$

Especificidad

- Especificidad óptica o de grupo
  - Ej: Descarboxilasas de aminoácidos
- Especificidad relativa
  - Ej: Hexoquinasa y Glucoquinasa



Clasificación

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwiirvGInezjAhVFnlkKHVjQC-AQFjAAegQIARAC&url=https%3A%2F%2Fiubmb.org%2Fwp-content%2Fuploads%2Fsites%2F2790%2F2018%2F10%2FTranslocases-EC-7.pdf&usg=AOvVaw3WJN-3RKMXOPTiPC8P06KV

International Classification of Enzymes*

No.	Class	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group-transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to ATP cleavage
7	Translocases	Catalyse the movement of ions or molecules across

membranes or their separation within membranes. Several of these involve the hydrolysis of ATP and had been previously classified as ATPases (EC 3.6.3.-), although the hydrolytic reaction is not their primary function.

Clasificación y nomenclatura

- Nombre= Reacción que catalizan ó sustrato + sufijo -asa
- Enzyme Commission= EC numbers
- Clase, subclase, sub-subclase, número serial
- Ejemplo:
  - EC 1.2.3.4= Oxidoreductasa (clase 1), que actúa en un grupo de donadores oxo ó aldehídos (subclase 2), que el aceptor es el oxígeno (sub-subclase 3) y que fue la cuarta enzima clasificada dentro de esta sub-subclase (número de serie 4).

Clasificación y nomenclatura

- 2.7.1.1

➢ 2 clase (transferasa)

  ➢ 7 subclase (fosfotransferasa)

    ➢ 1 fosfotransferasa con un grupo hidroxilo como aceptor

      ➢ 1 D- glucosa como el grupo aceptor de fosfato

1. Oxidoreductases
   - Dehydrogenases
   - Oxidases
   - Reductases
   - Peroxidases
   - Catalase
   - Oxygenases
   - Hydroxylases

2. Transferases
   - Transaldolase and transketolase
   - Acyl-, methyl-, glucosyl-, and phosphoryl-transferase
   - Kinases
   - Phosphomutases

3. Hydrolases
   - Esterases
   - Glycosidases
   - Peptidases
   - Phosphatases
   - Thiolases
   - Phospholipases
   - Amidases
   - Deaminases
   - Ribonucleases

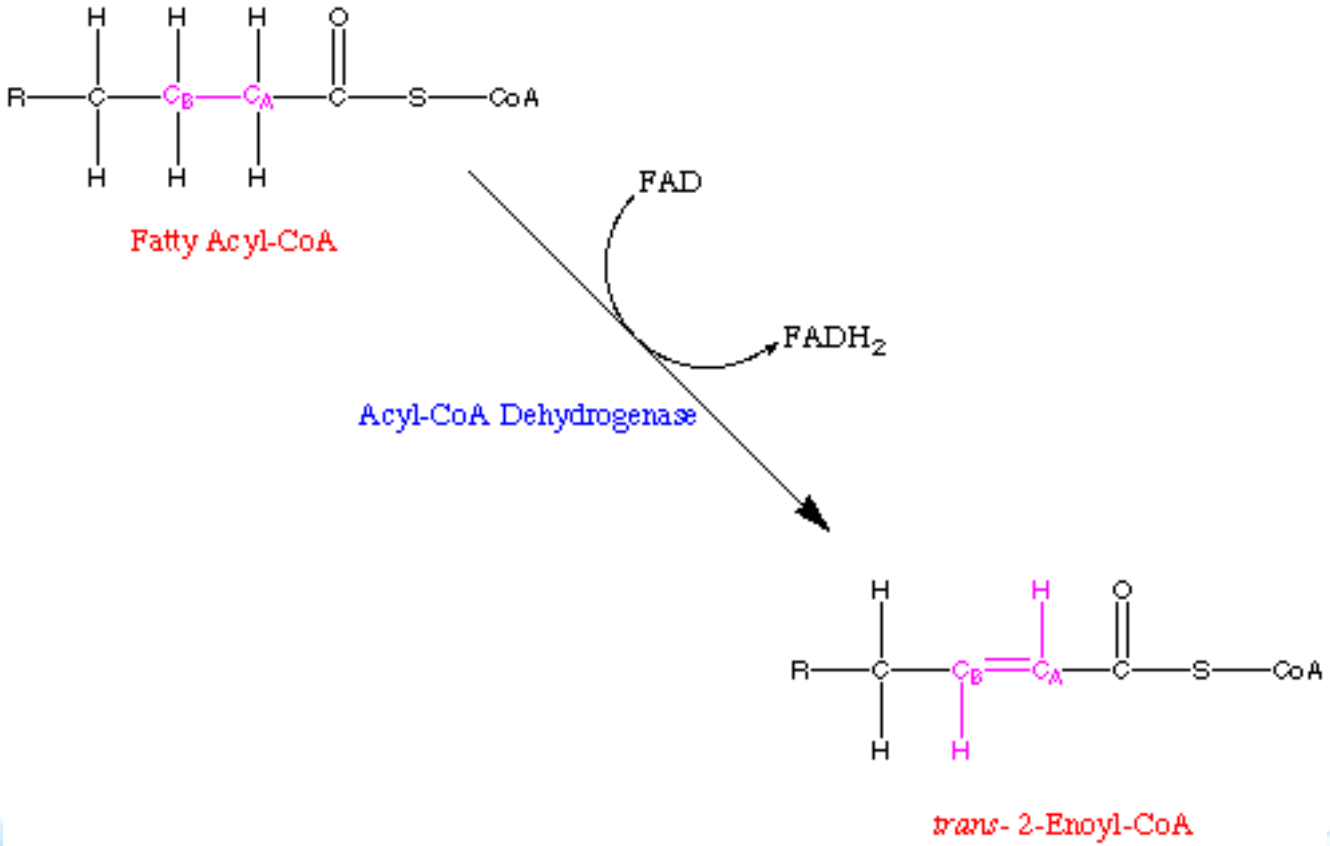
4. Lyases
   - Decarboxylases
   - Aldolases
   - Hydratases
   - Dehydratases
   - Synthases
   - Lyases

5. Isomerases
   - Racemases
   - Epimerases
   - Isomerases
   - Mutases (not all)

6. Ligases
   - Synthetases
   - Carboxylases

Óxido-reductasas

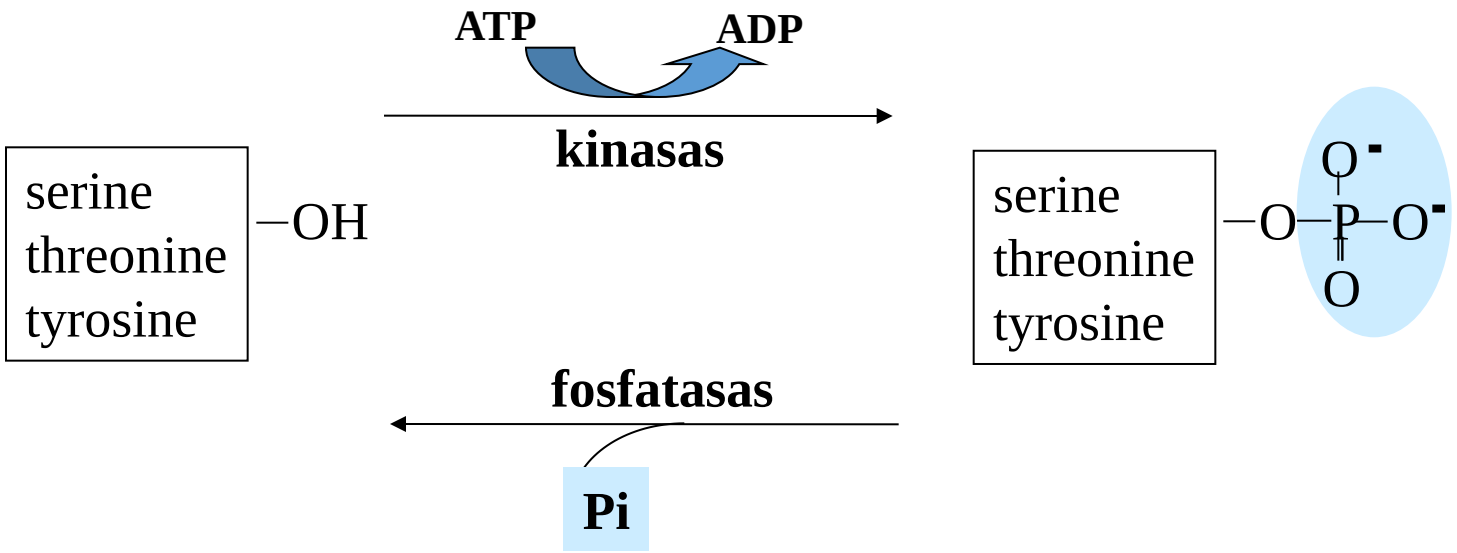
- **Transferencia de electrones**
  - Deshidrogenasas, oxidasas, peroxidasas, oxigenasas, reductasas



Lactato deshidrogenasa

Transferasas

- Transferencia de grupos funcionales de una molécula a otra

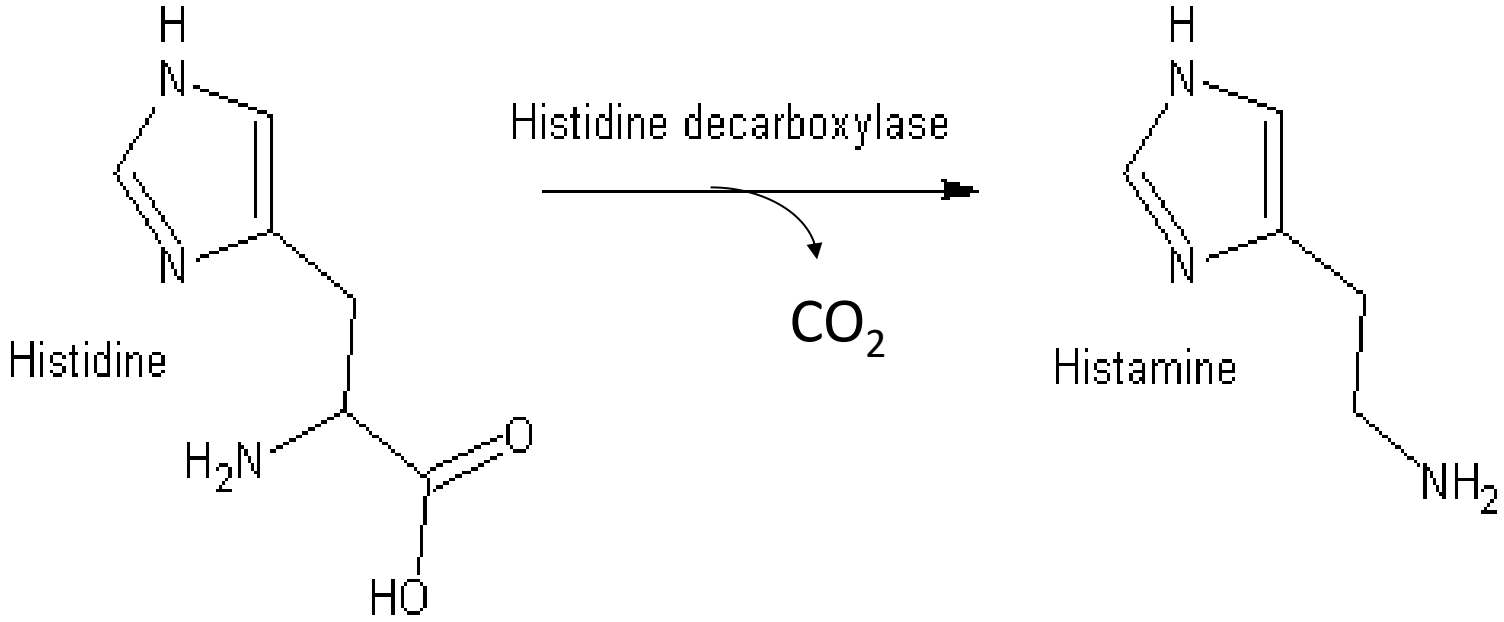


- Rotura de enlaces por adición de agua

Hidrolasas

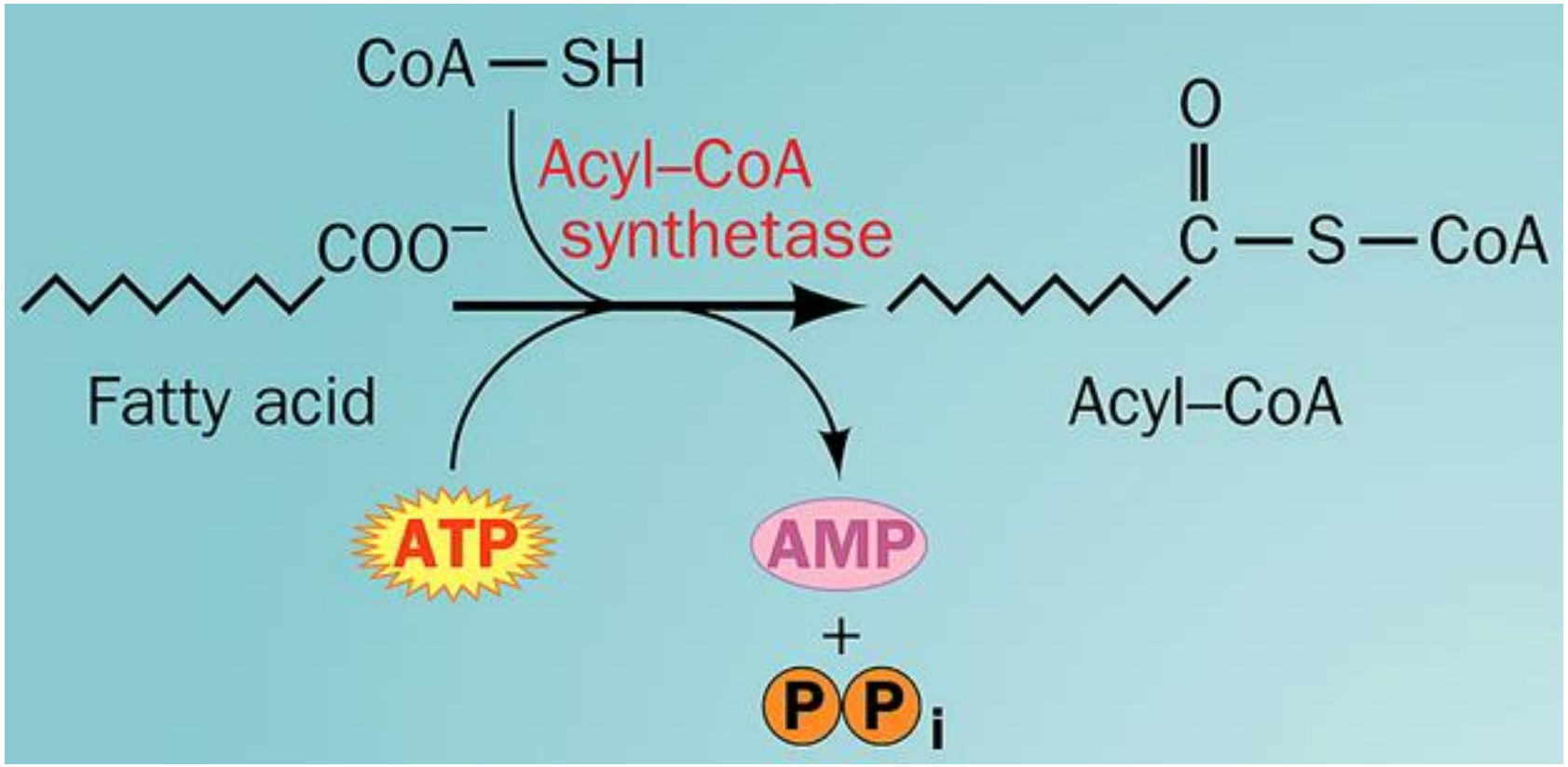
Liasas

- Adición de grupos a enlaces dobles,
  - y también formación de enlaces dobles al remover grupos (rompe enlaces C— C, C — O ó C — N)
  - rearreglo de electrones



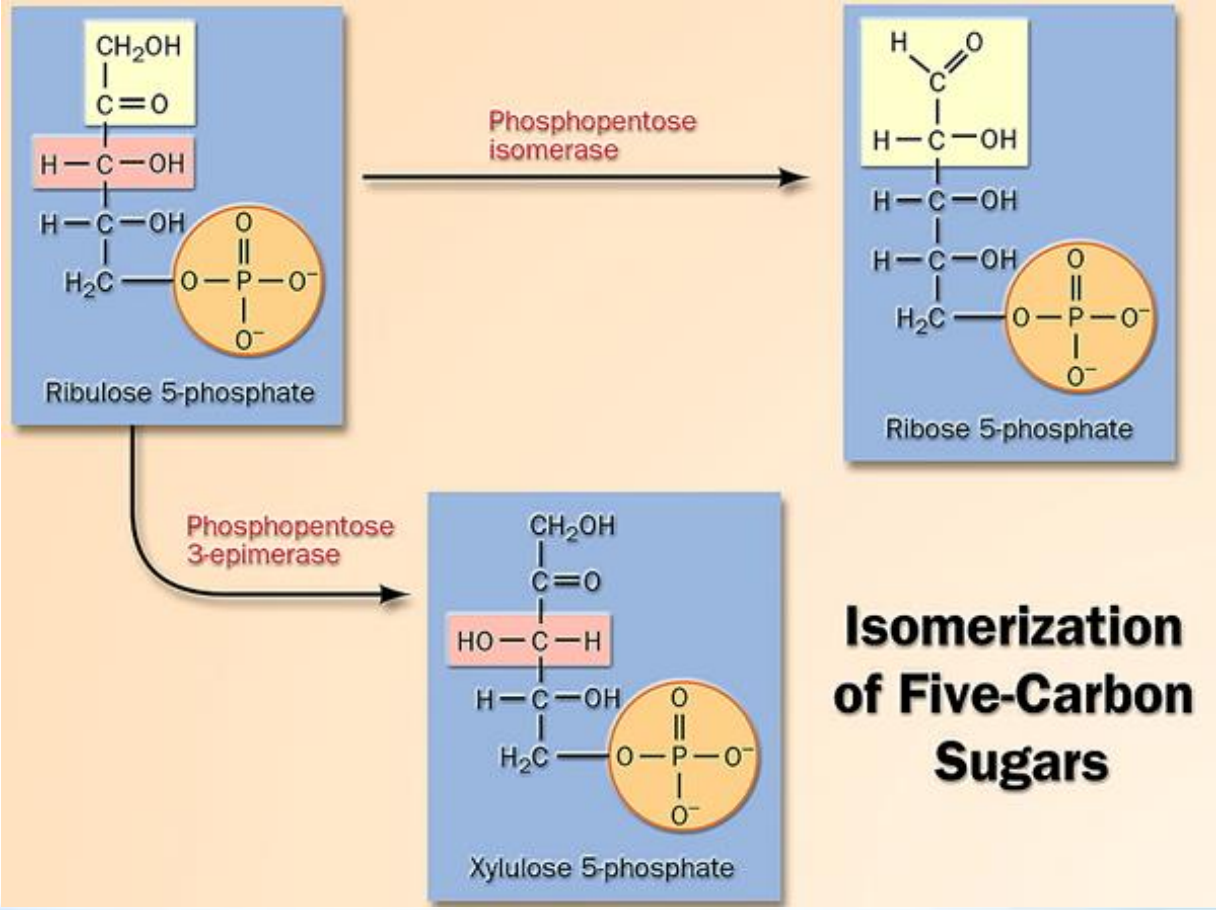
Ligasas

- Formación de enlaces C— C, C —S, C — O y C — N por reacciones de condensación asociadas a ATP



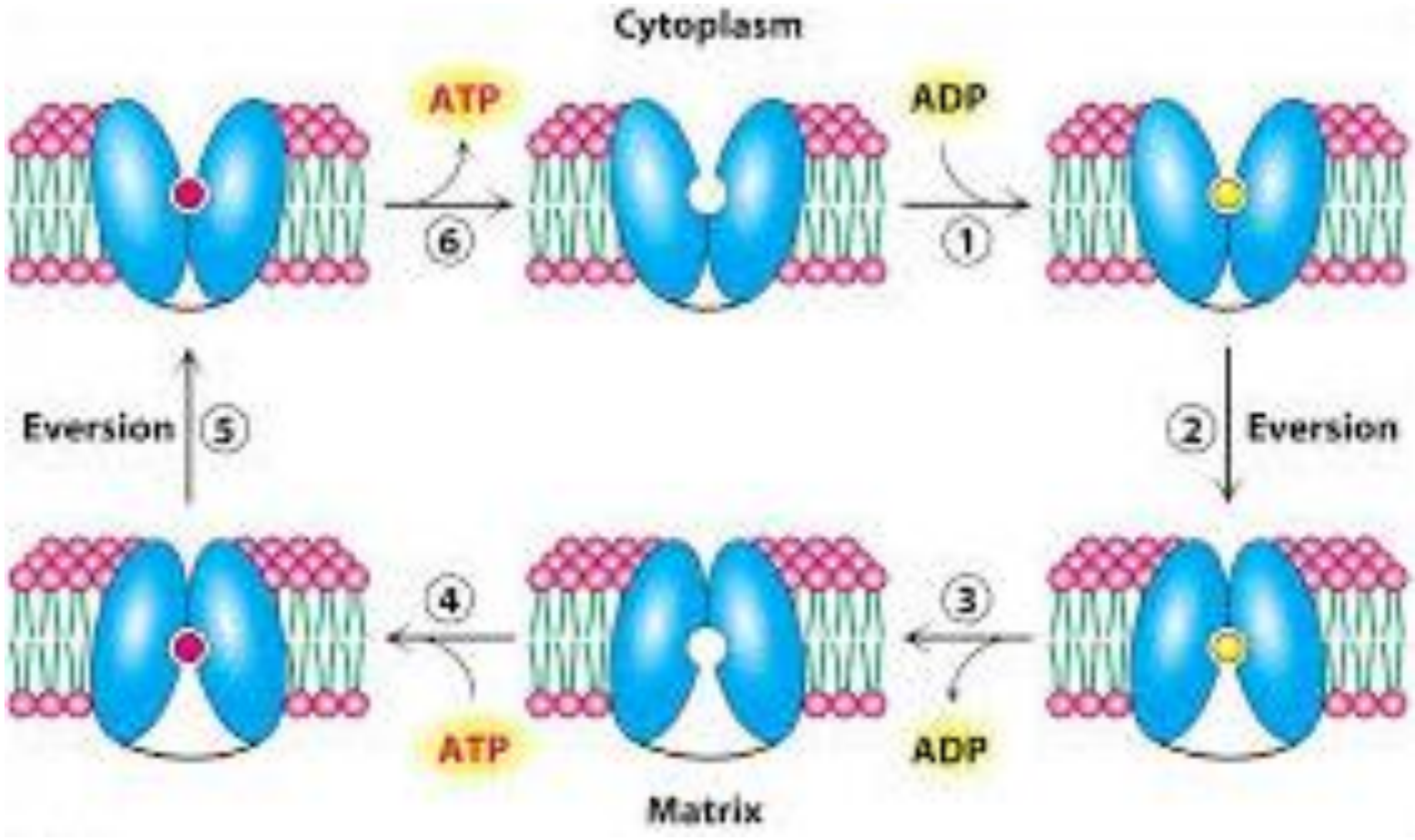
Isomerasas

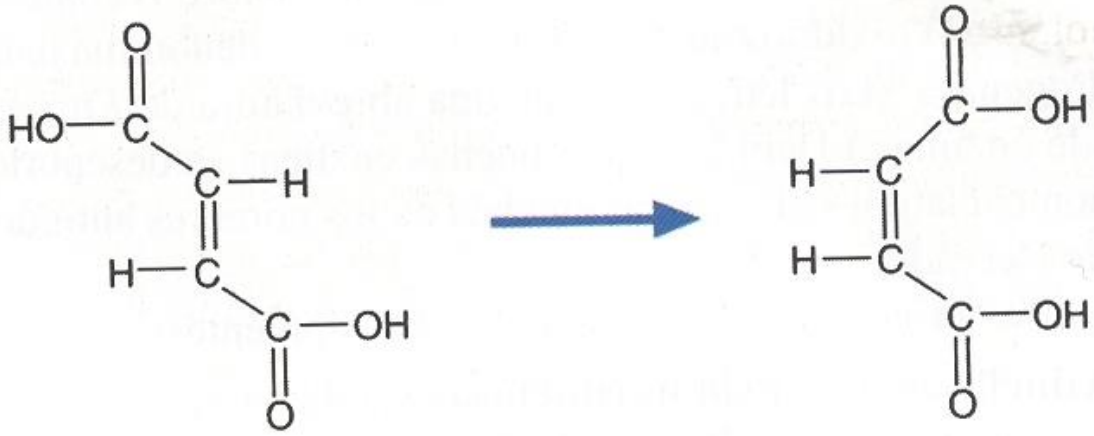
- Transferencia de grupos dentro de moléculas para formar isómeros (rearreglo de grupos funcionales)



Alanina racemasa

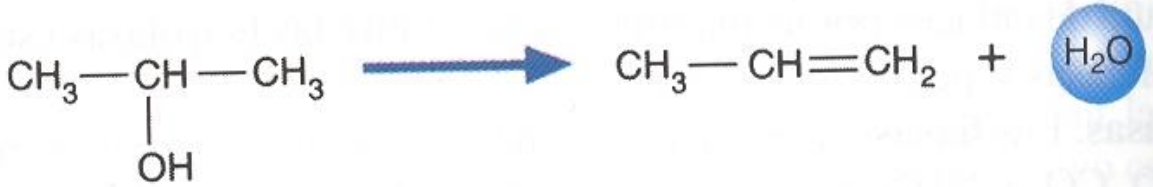
Translocasas





a.

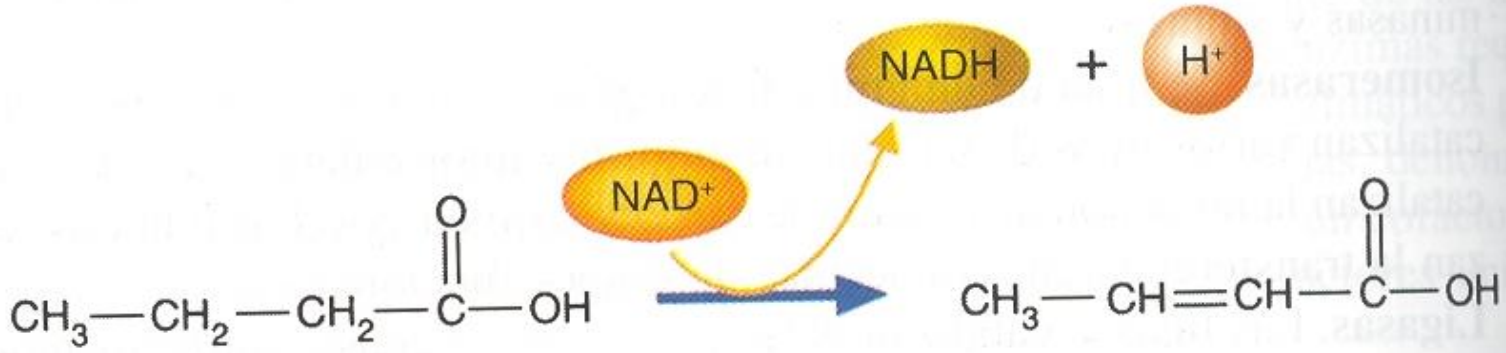
b.



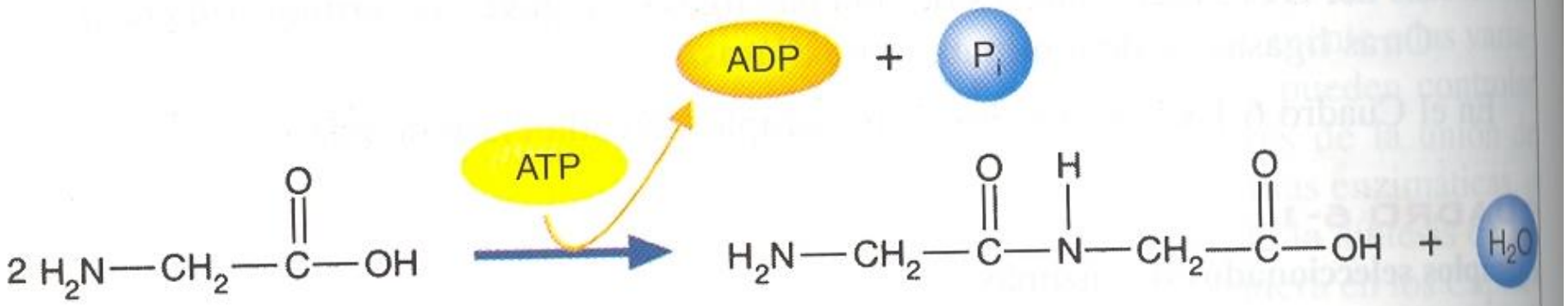
Isomerasa

Transferasa

Liasa



d.



e.

f.

Oxidorreductasa

Ligasa

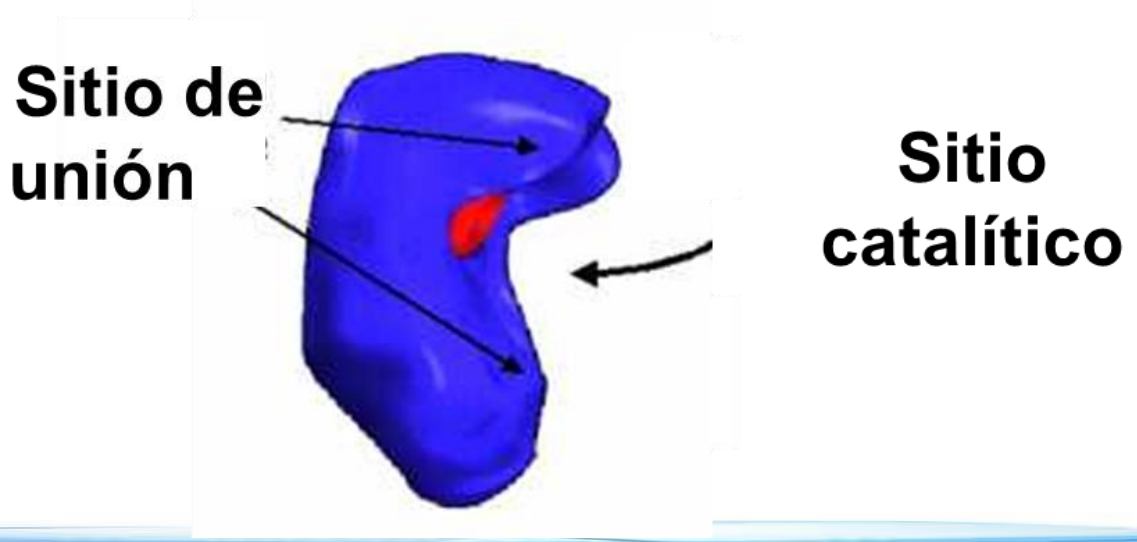
Hidrolasa

Sitio catalítico o sitio activo

- Contiene los residuos que participan directamente en la producción y ruptura de enlaces

A) sitio de unión: región de la proteína donde se une el ligando (sustrato)

B) sitio catalítico: región de la enzima donde ocurre la reacción



Características

1) Porción pequeña del volumen total de la proteína

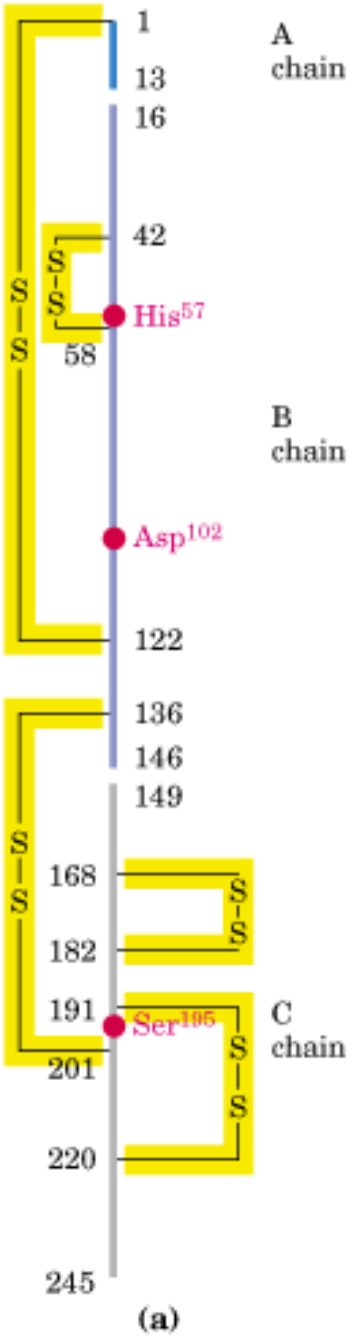
2) Tridimensional

3) Los sustratos se unen a las enzimas por numerosas fuerzas débiles

4) Los centros activos son hoyos o hendiduras

5) La especificidad del enlace depende de la disposición definida de los átomos del centro activo

- Los aminoácidos que conforman el sitio catalítico no necesariamente están contiguos en la estructura primaria de la proteína



Modelo llave-cerradura

- Emil Fisher, 1893

- El sitio catalítico o sitio activo es el que presenta la actividad enzimática

- Explica la especificidad, pero no la catálisis

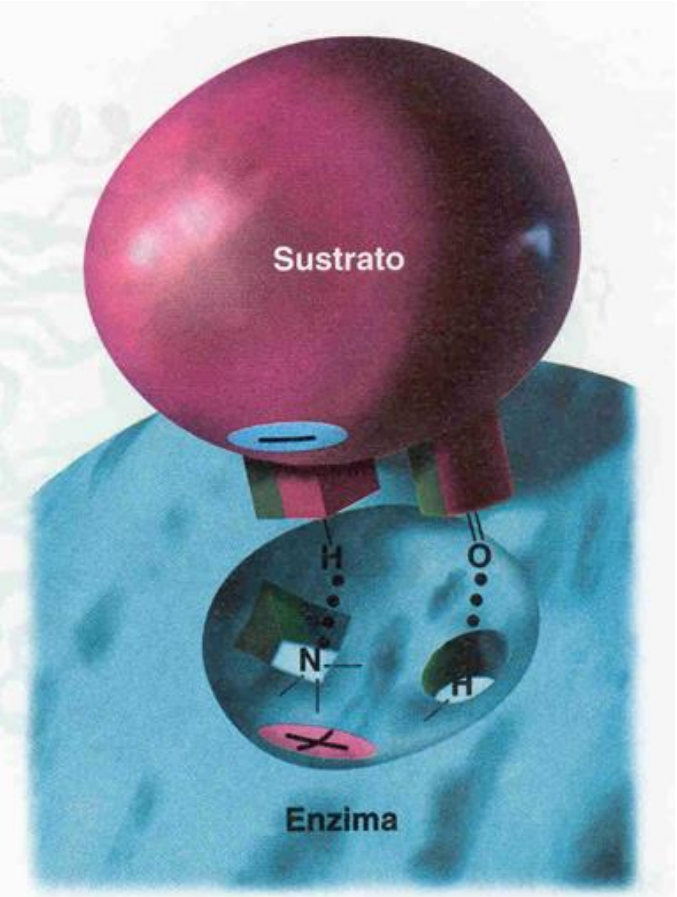
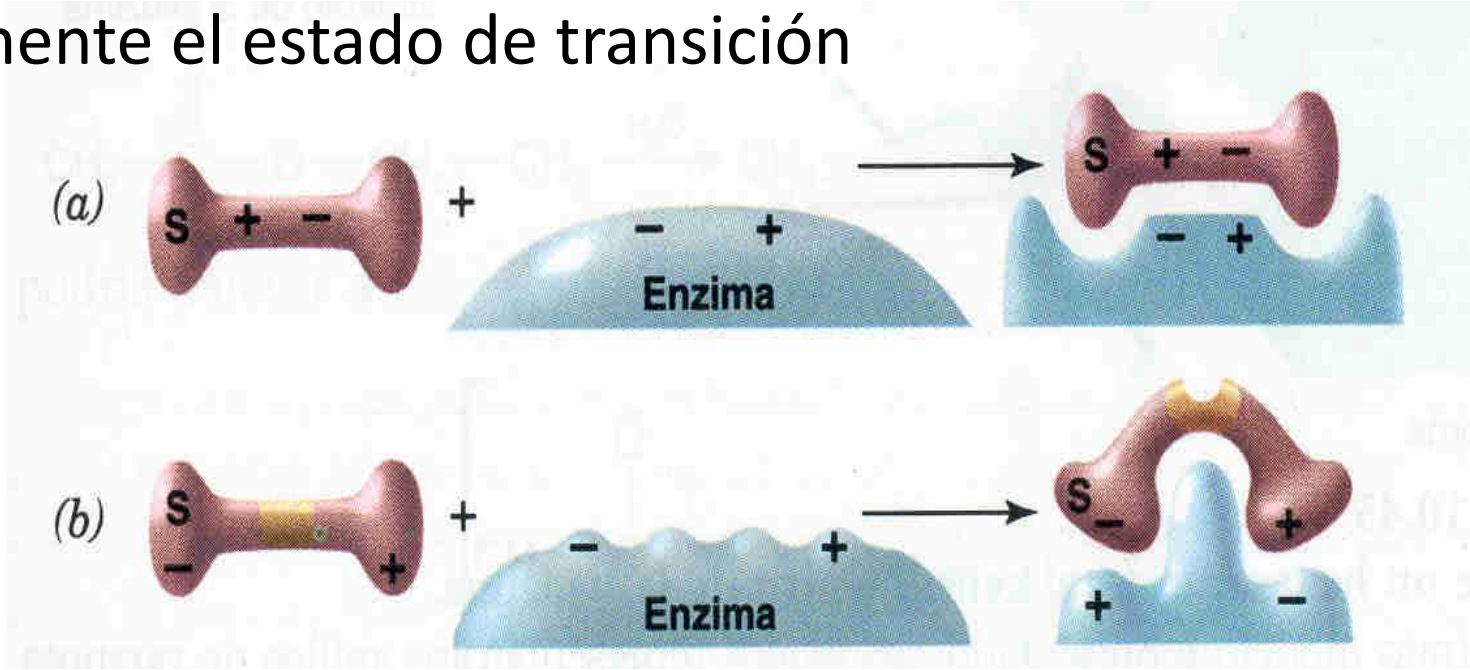
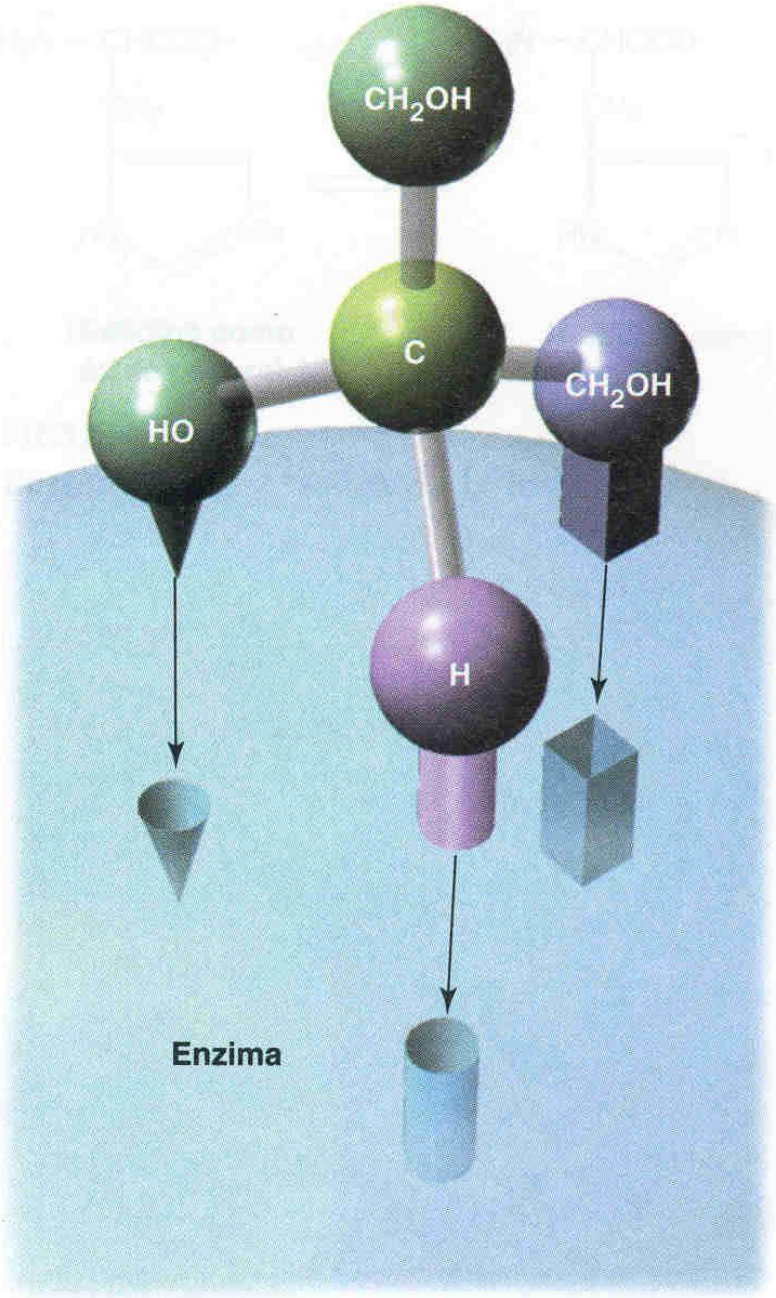


FIGURA 10.42
Modelo de la llave y cerradura del centro de fijación del sustrato.
El enzima contiene una impresión negativa de las características moleculares del sustrato, permitiendo así la especificidad del enzima por un sustrato determinado. La formación de pares iónicos específicos puede contribuir al reconocimiento del sustrato.

Modelo del ajuste inducido

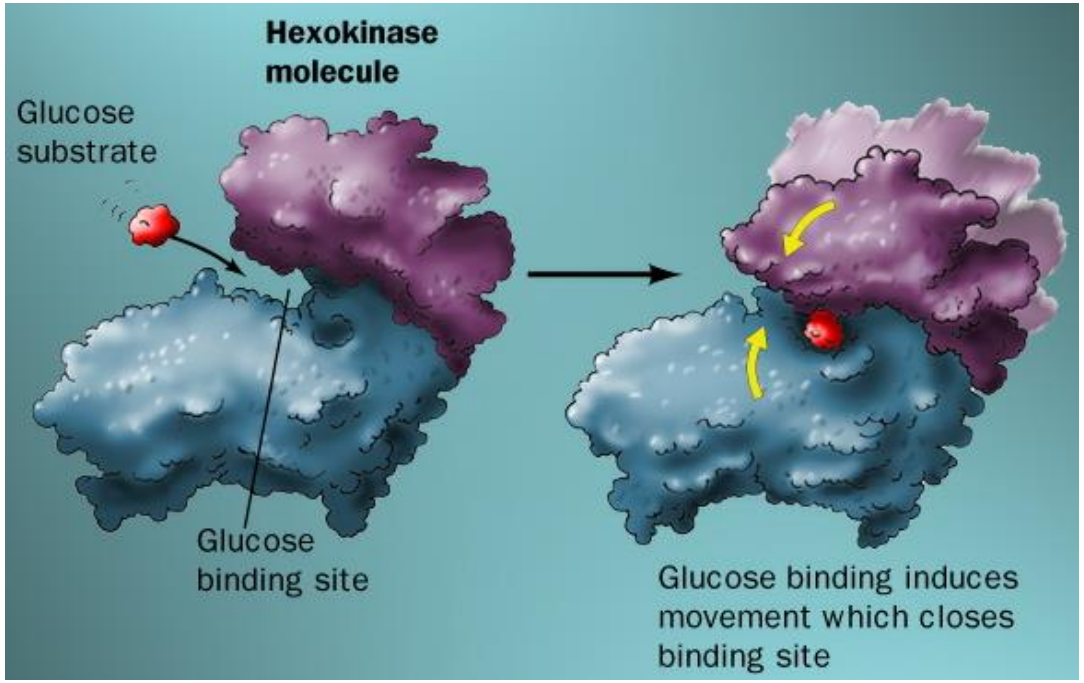
- Daniel Koshland, 1958
- La enzima, al interactuar con el sustrato sufre un cambio conformacional que les permite una interacción más estrecha, con lo que se favorece energéticamente el estado de transición





- Sólo en los casos en que se logre la interacción ES en tres puntos se favorecerá la reacción y se obtendrá el producto

Cambio conformacional causado por la unión del sustrato



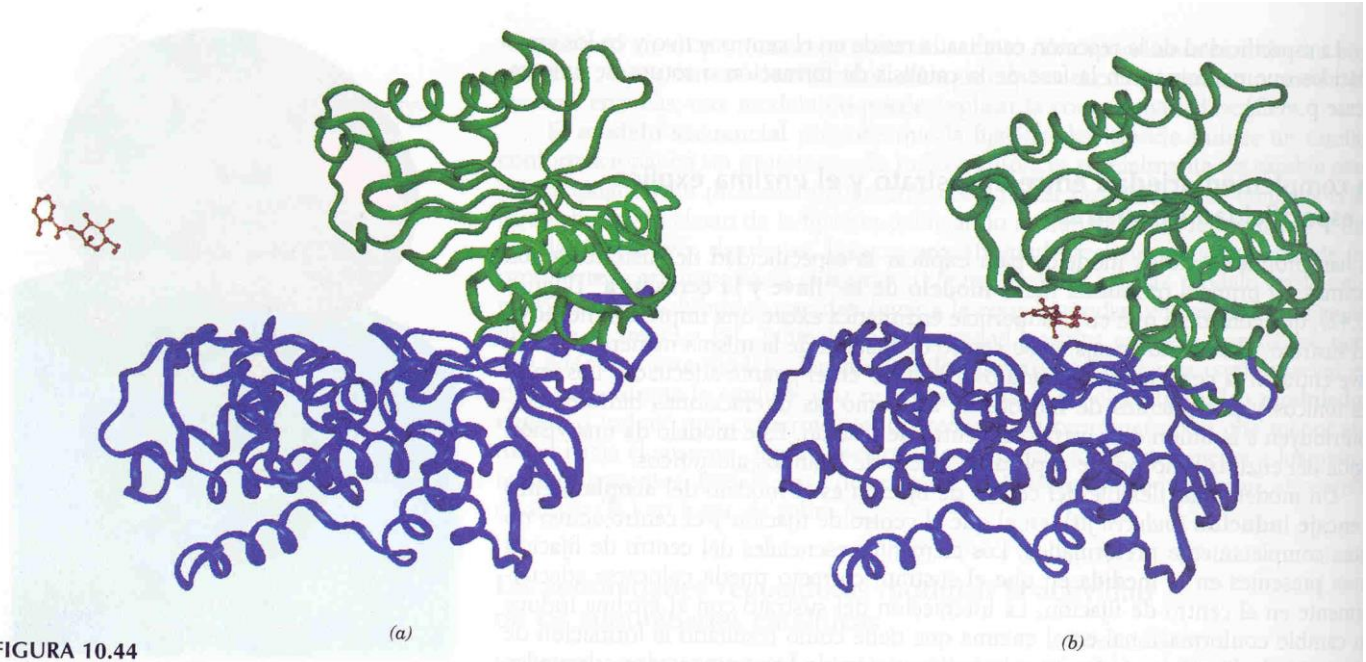
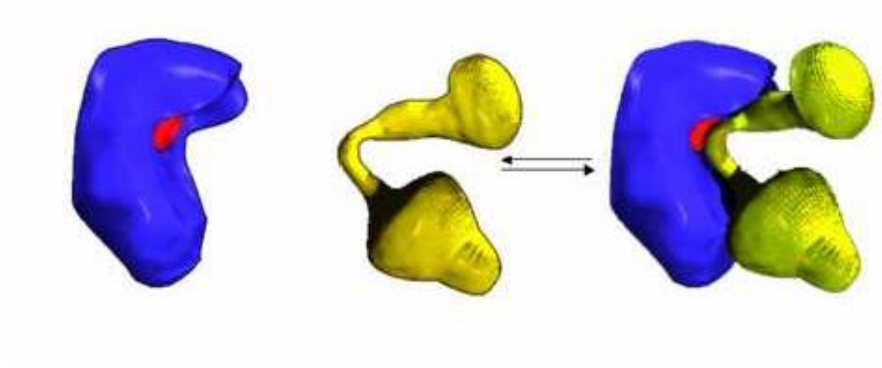


FIGURA 10.44
Cambios conformacionales de la hexoquinasa inducidos por la glucosa.

Pasos

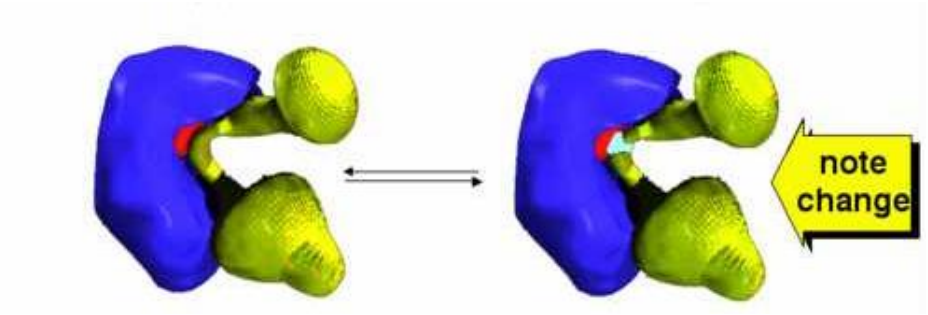
1) Enzima y el sustrato forman un complejo



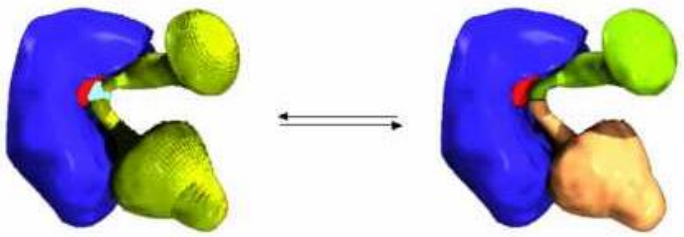
$$E + S \rightleftharpoons ES$$

2) Complejo ES pasa a un estado de transición

$$ES \rightleftharpoons ES$$

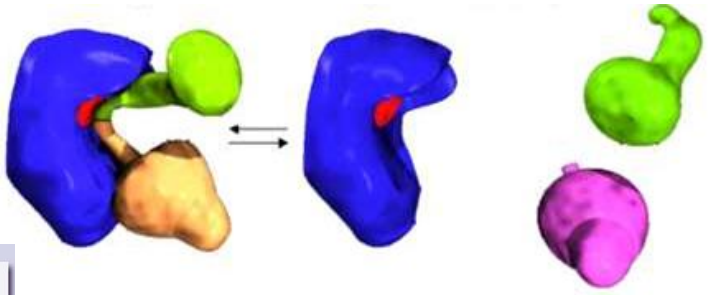


3) Se forma un complejo de enzima y producto

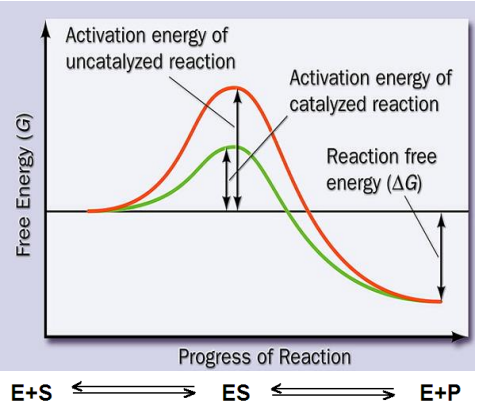


$$ES^{\ddagger} \rightleftharpoons EP$$

4) El producto y la enzima se separan



$$EP \rightleftharpoons E + P$$



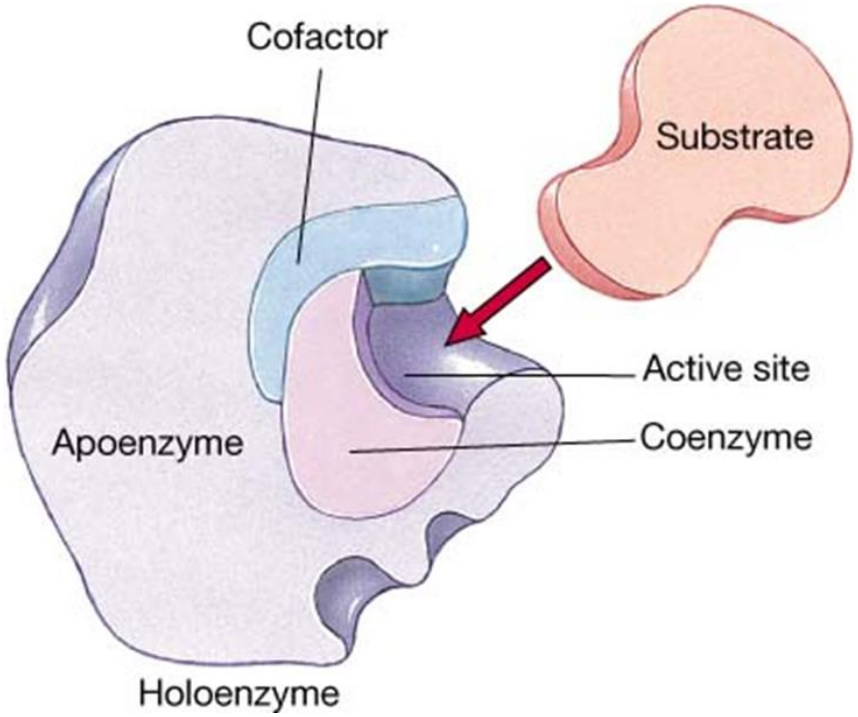
Cofactores

- Los cofactores pueden ser orgánicos o inorgánicos, algunas enzimas pueden requerir ambos tipos

- **Cofactores** inorgánicos o minerales
  - Iones metálicos: Cu, Fe, Mg, Zn, K, Mn, Mb, Co

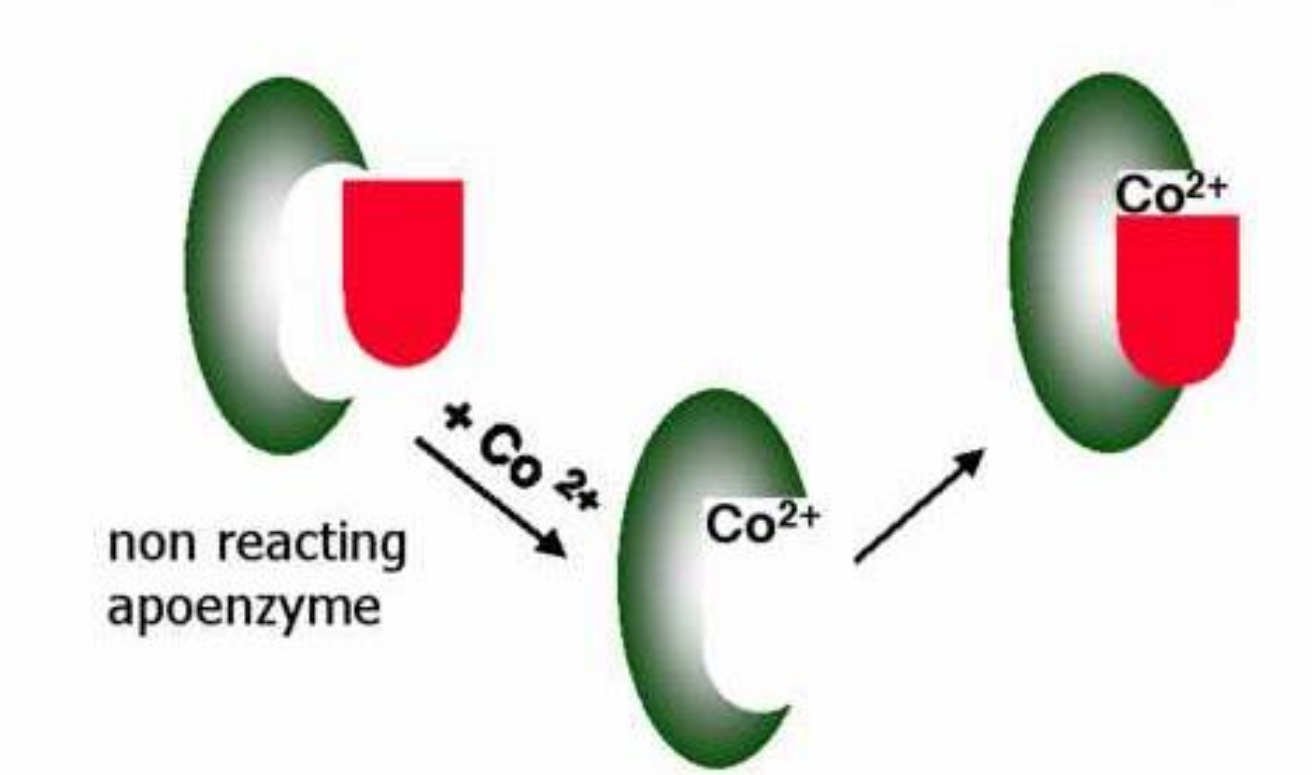
- Cofactores orgánicos o **coenzimas**
  - Funcionan como transportadores de grupos químicos, átomos o electrones
  - Muchos derivan de las vitaminas

- **Grupos prostéticos**: coenzima o cofactor unido fuertemente o covalentemente a la proteína



Apoenzima + **cofactor** → **Holoenzima**

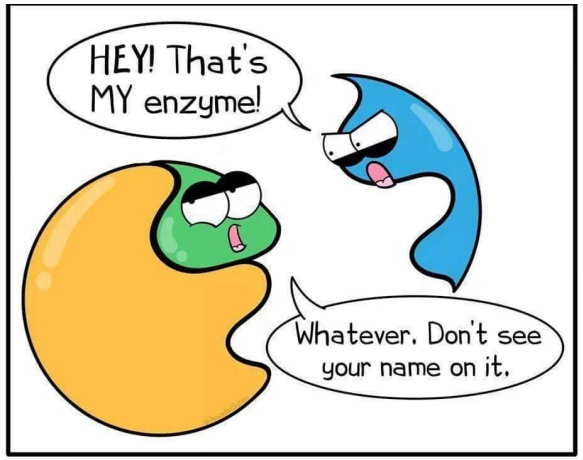
(parte proteica) y/o coenzima catalíticamente activa



Coenzima	Grupo que transfiere	Precursor en la dieta
Biocitina	CO_2	Biotina (Vitamina B7, B8, H)
Coenzima A	Acilo	Ácido pantoténico (Vitamina B5 ó W)
Coenzima B12	Átomos H y grupos alquilo	Vitamina B12
Piridoxal fosfato	Grupos amino	Piridoxina (Vitamina B6)
Tetrahidrofolato	Grupos de 1 carbono	Folato (Vitamina B9)
Tiamina pirofosfato	Aldehídos	Tiamina (Vitamina B1)

Regulación de la actividad enzimática

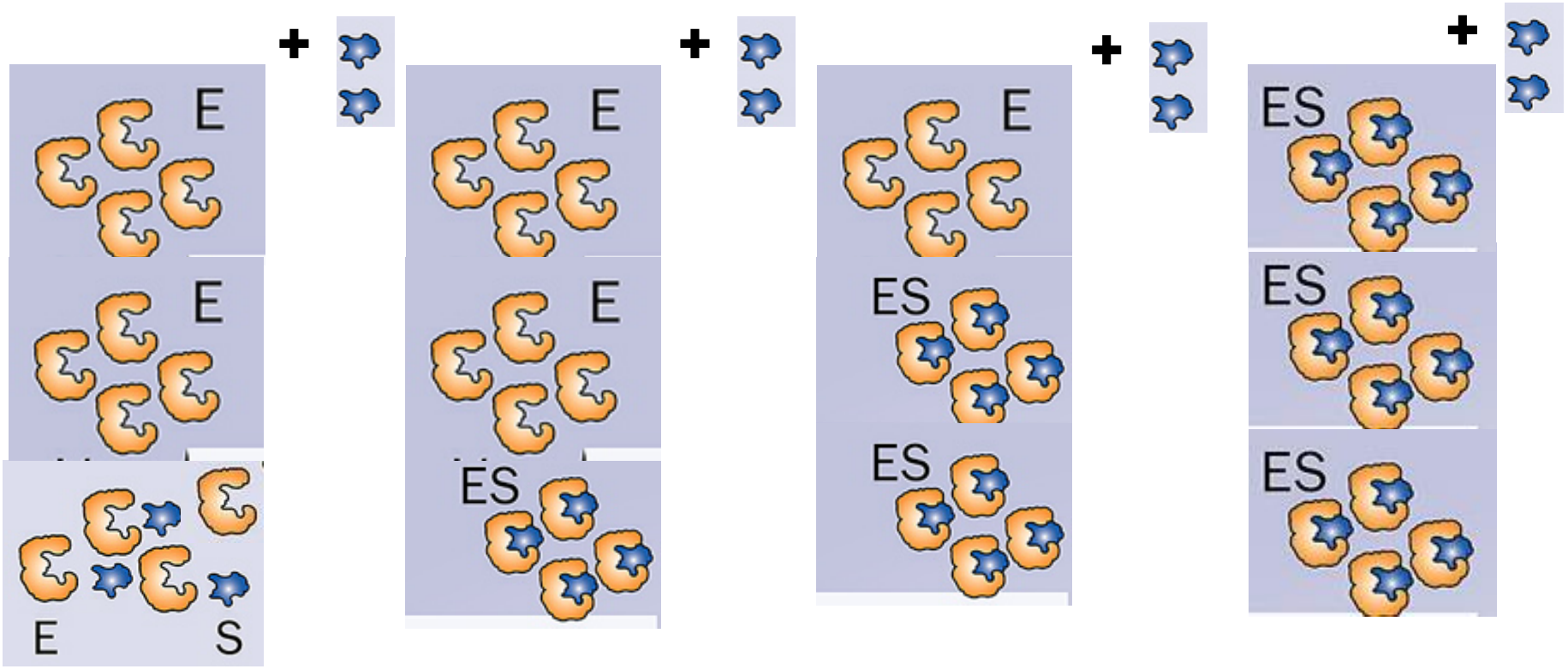
- Modificación de la concentración del sustrato
- Modificación de la concentración de la enzima
- Modificación covalente
- Regulación alostérica
- Zimógenos
- Inhibidores



Competitive Inhibitors: If it fits, it sits.

Modificación de la concentración del sustrato

Aumentando [S]



Aumentando Velocidad

Vmax

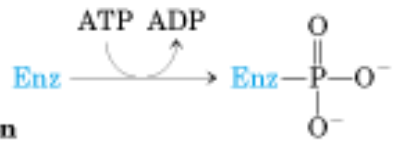
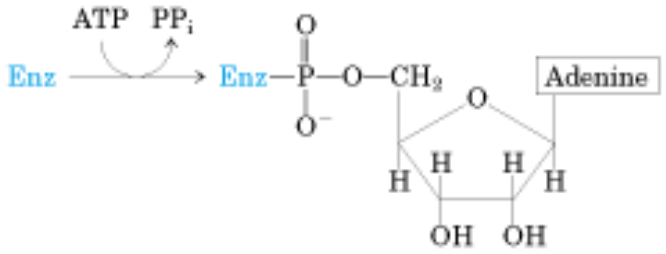
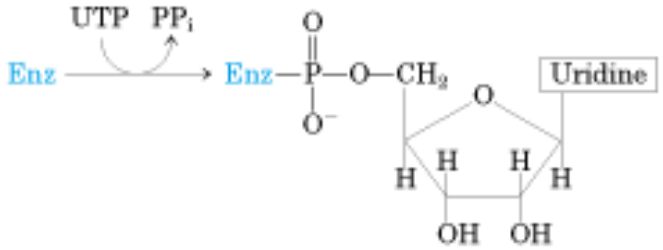
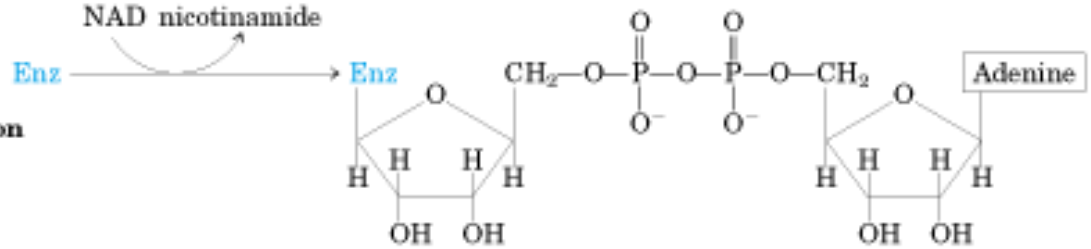
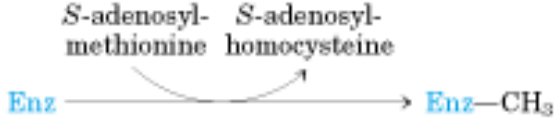
Modificación de la concentración de enzima

- Inducción enzimática: síntesis *de novo* de la enzima
  - Requiere tiempo y energía
  - Cuando la concentración de sustrato aumenta por encima de valores que las enzimas disponibles pueden manejar o si aparecen sustratos nuevos
  - Generalmente estimulada por hormonas y la regulación es de larga duración

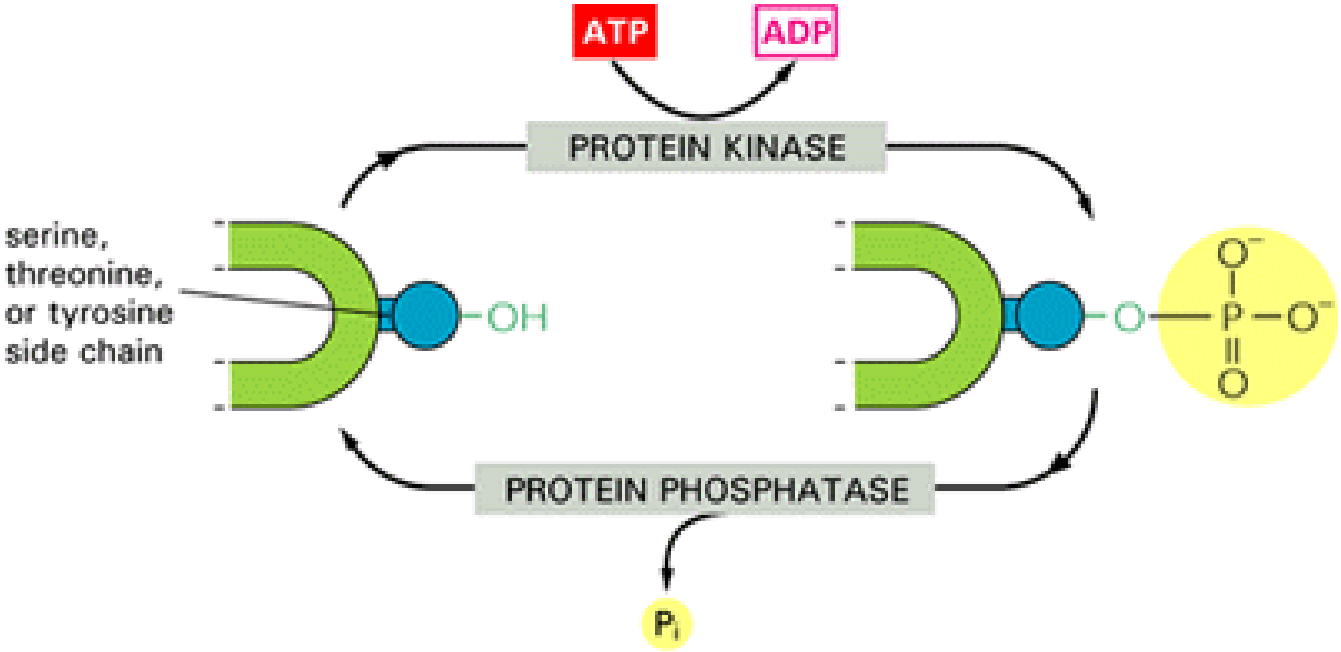
- Represión enzimática: disminución en la síntesis de enzimas

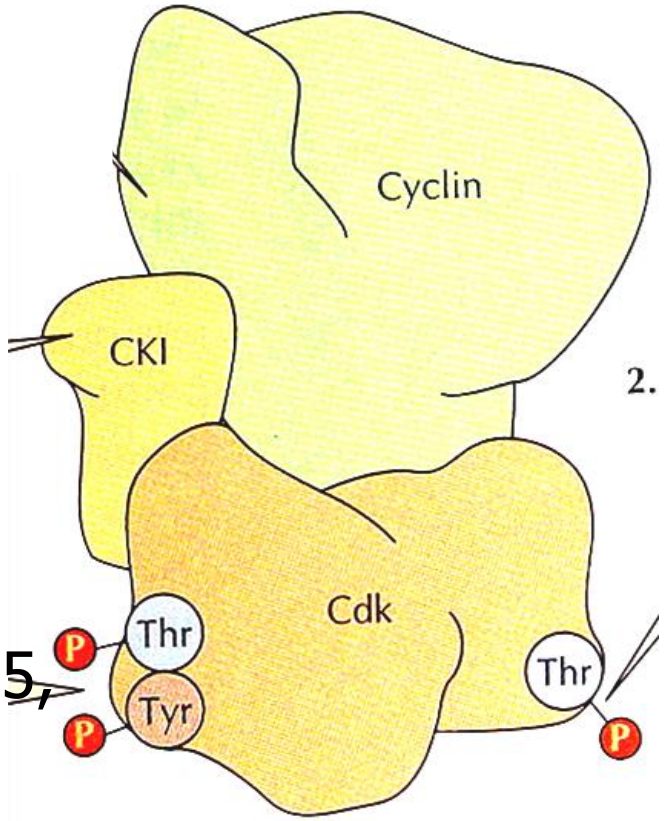
Modificación covalente

- Regula la disponibilidad de enzima activa
- Generalmente transitoria y reversible
- Adición covalente / remoción de un grupo químico a la enzima
- Generalmente grupos fosfato (PO_4^{3-}), grupos metilo ($-CH_3$) y la adenosina
  - La regulación consiste en su adición y/o remoción

Covalent modification		Amino acid residues known to accept covalent modification
Phosphorylation		Tyr, Ser, Thr, His
Adenylylation		Tyr
Uridylylation		Tyr
ADP-ribosylation		Arg, Gln, Cys, diphthamide (a modified His)
Methylation		Glu

Modificaciones covalentes de grupos funcionales y/o residuos específicos



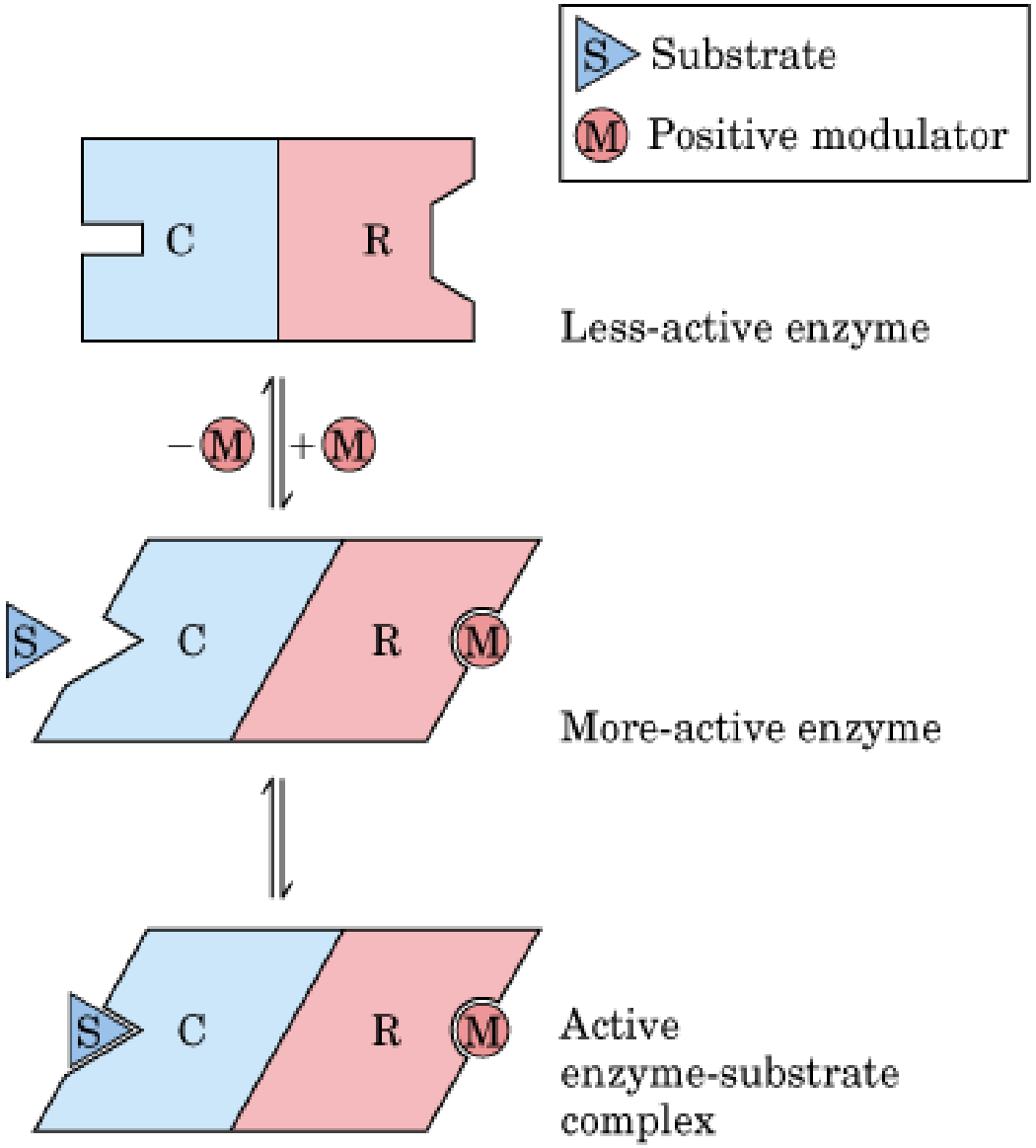


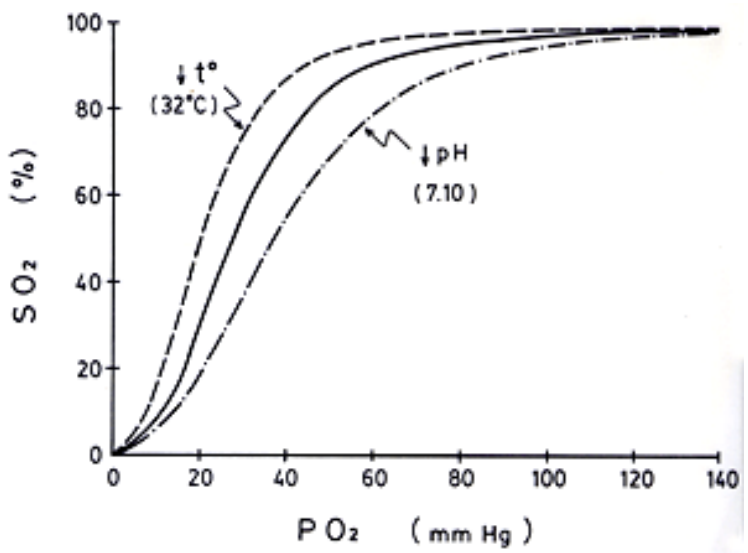
Si P en Thr 14 y Tir 15, efecto inhibitorio

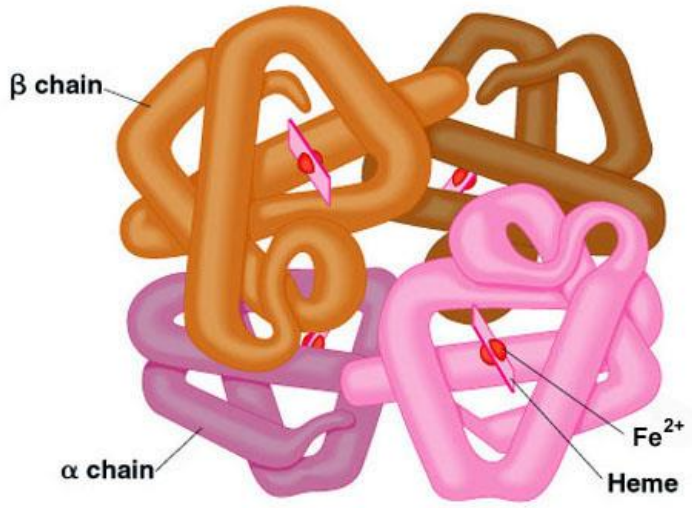
Activa si P en Thr 160

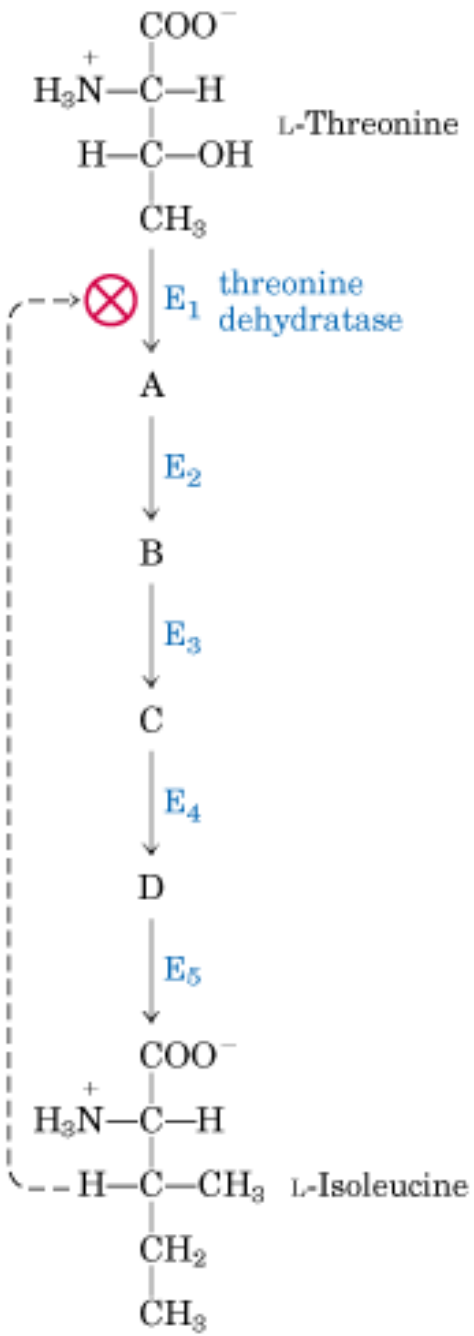
Regulación alostérica

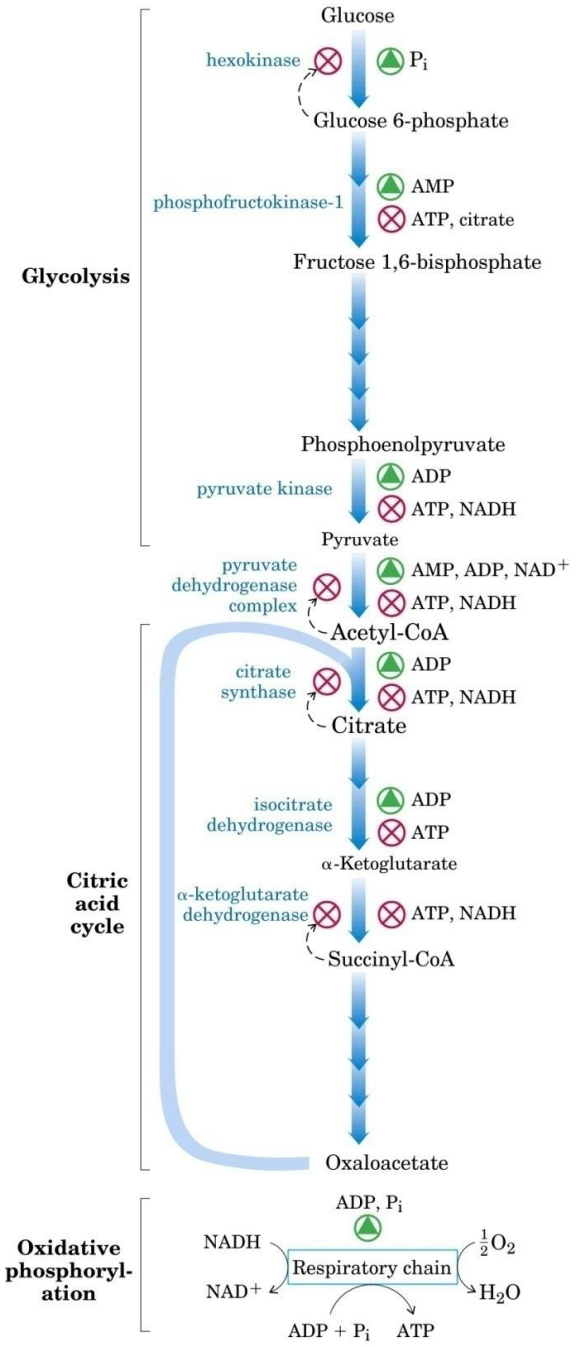
- Efectores o activadores alostéricos:
  - Facilitan la interacción de la enzima con su sustrato
- Inhibidores alostéricos:
  - Dificultan la formación del complejo ES, disminuyen la actividad enzimática
- Generalmente son productos o subproductos de las vías metabólicas que regulan

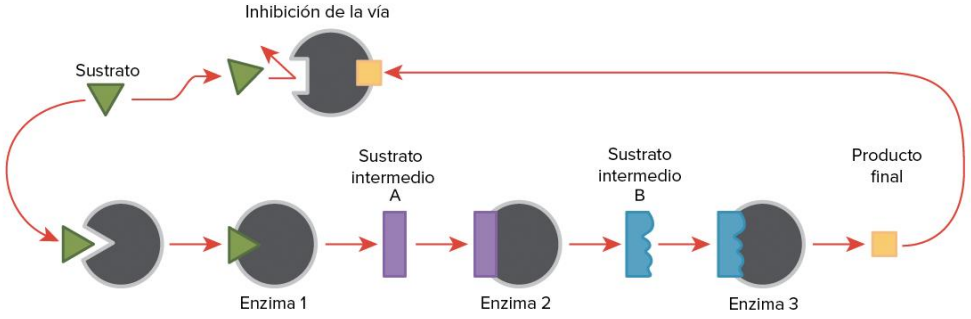

S Substrate
M Positive modulator
C
R
Less-active enzyme
− M
+ M
S
C
R
M
More-active enzyme
S
C
R
M
Active enzyme-substrate complex

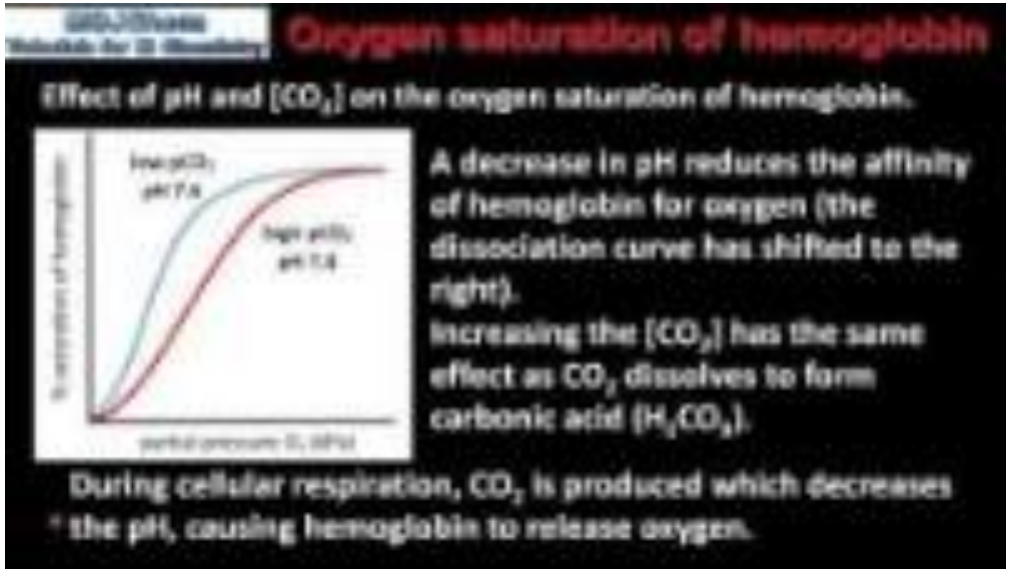

100
80
60
40
20
0
S O₂ (%)
↓ t°
(32°C)
↓ pH
(7.10)
0
20
40
60
80
100
120
140
P O₂ (mm Hg)


β chain
α chain
Fe2+
Heme

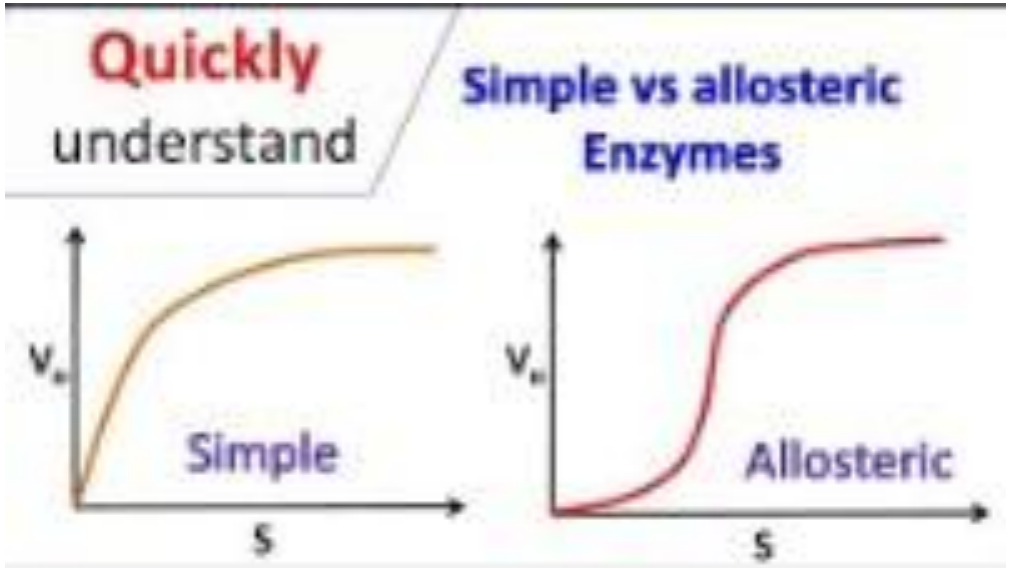

COO⁻
H₃N—C—H
H—C—OH
CH₃
L-Threonine
E1
threonine dehydratase
A
E2
B
E3
C
E4
D
E5
COO⁻
H₃N—C—H
H—C—CH₃
L-Isoleucine
CH₂
CH₃


Glucose
hexokinase
Pi
Glucose 6-phosphate
phosphofructokinase-1
AMP
ATP, citrate
Fructose 1,6-bisphosphate
Glycolysis
Phosphoenolpyruvate
pyruvate kinase
ADP
ATP, NADH
Pyruvate
pyruvate dehydrogenase complex
AMP, ADP, NAD+
ATP, NADH
Acetyl-CoA
citrate synthase
ADP
ATP, NADH
Citrate
isocitrate dehydrogenase
ADP
ATP
α-Ketoglutarate
α-ketoglutarate dehydrogenase
ATP, NADH
Succinyl-CoA
Citric acid cycle
Oxaloacetate
ADP, Pi
NADH
½O2
Respiratory chain
NAD+
H2O
ADP + Pi
ATP
Oxidative phosphorylation


Inhibición de la vía
Sustrato
Sustrato intermedio A
Sustrato intermedio B
Producto final
Enzima 1
Enzima 2
Enzima 3



https://www.youtube.com/watch?v=_Plqwfr-DH0&t=108s



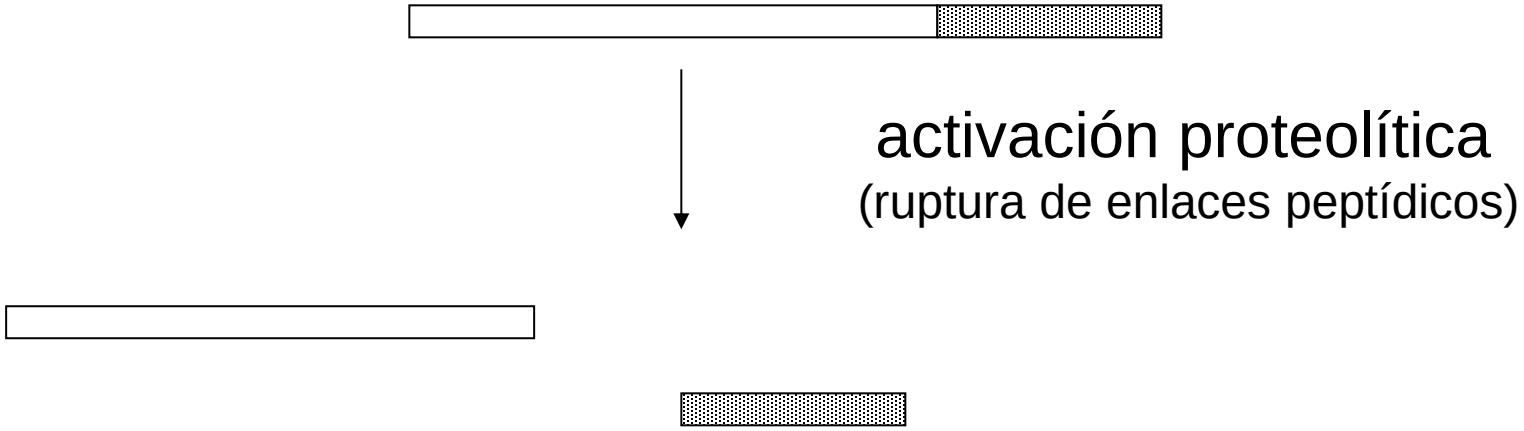
https://www.youtube.com/watch?v=gKIuolXzpLk&t=78s

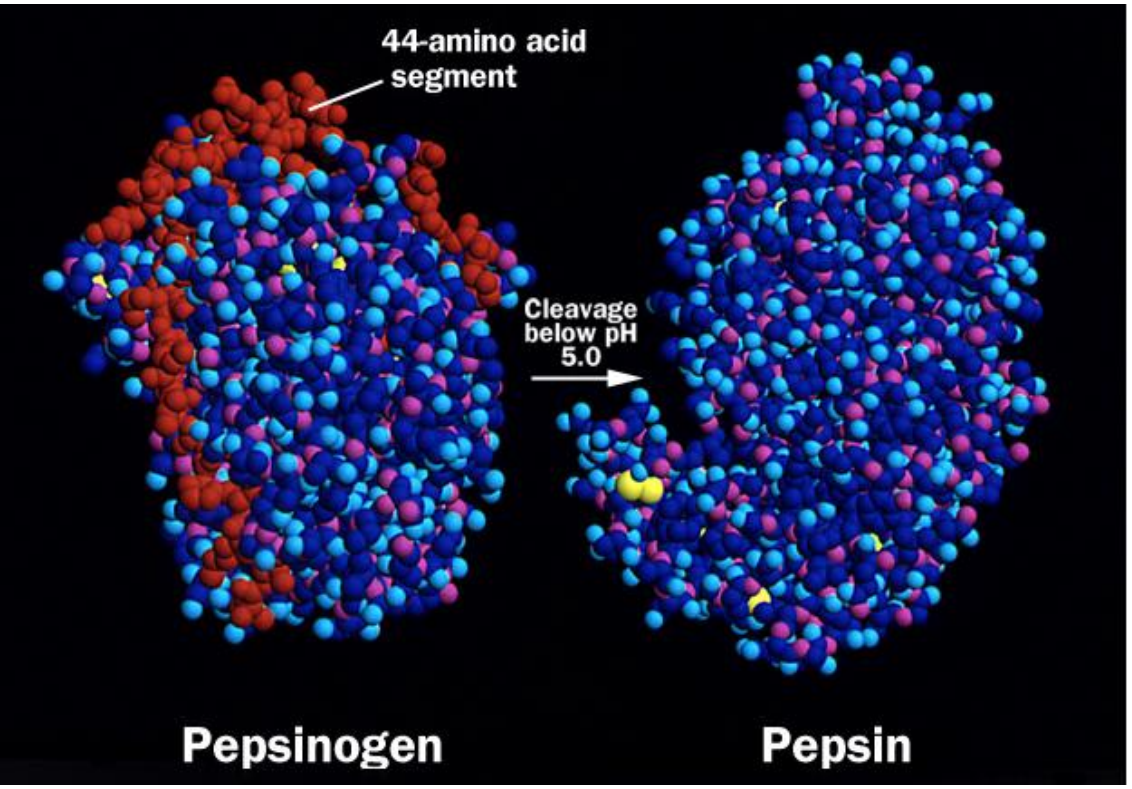
https://www.youtube.com/watch?v=UWrJssS76XE&t=364s

Zimógenos o proenzimas

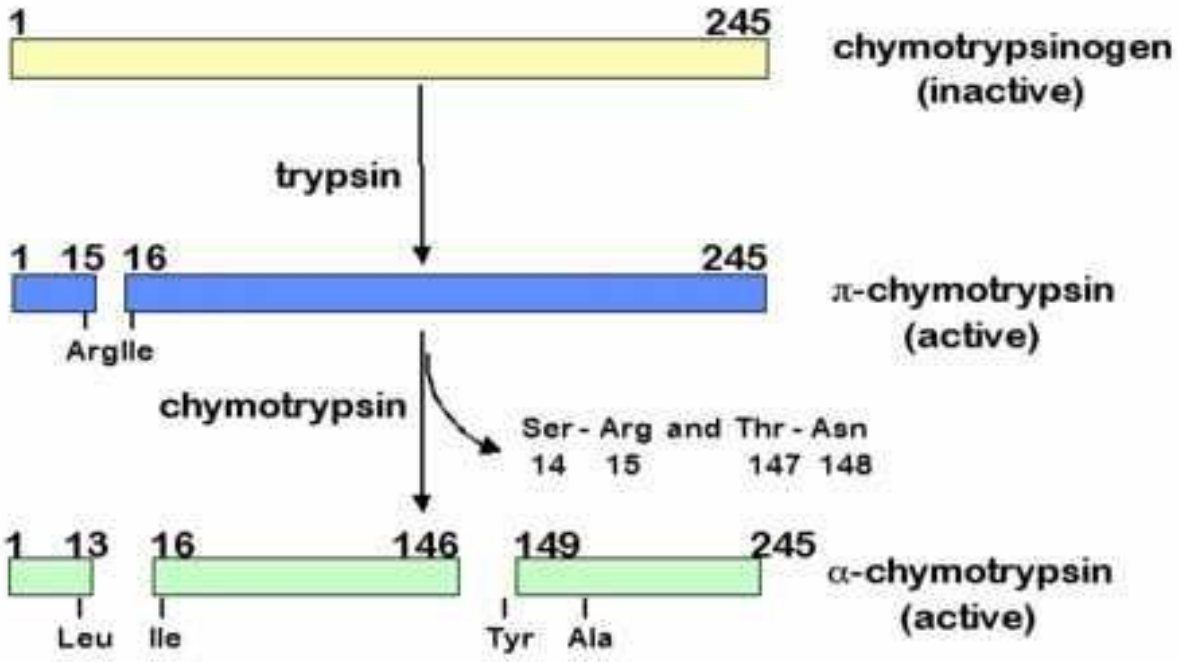
- Enzimas sintetizadas como moléculas inactivas
- Se activan de manera irreversible cuando se les separa parte de su estructura primaria
- Se activan químicamente por cambios en el pH, por acción de enzimas proteolíticas o por reacción en cadena
- Se evita que enzimas potencialmente perjudiciales se encuentren siempre activas

Zimógenos: proteína precursora inactiva

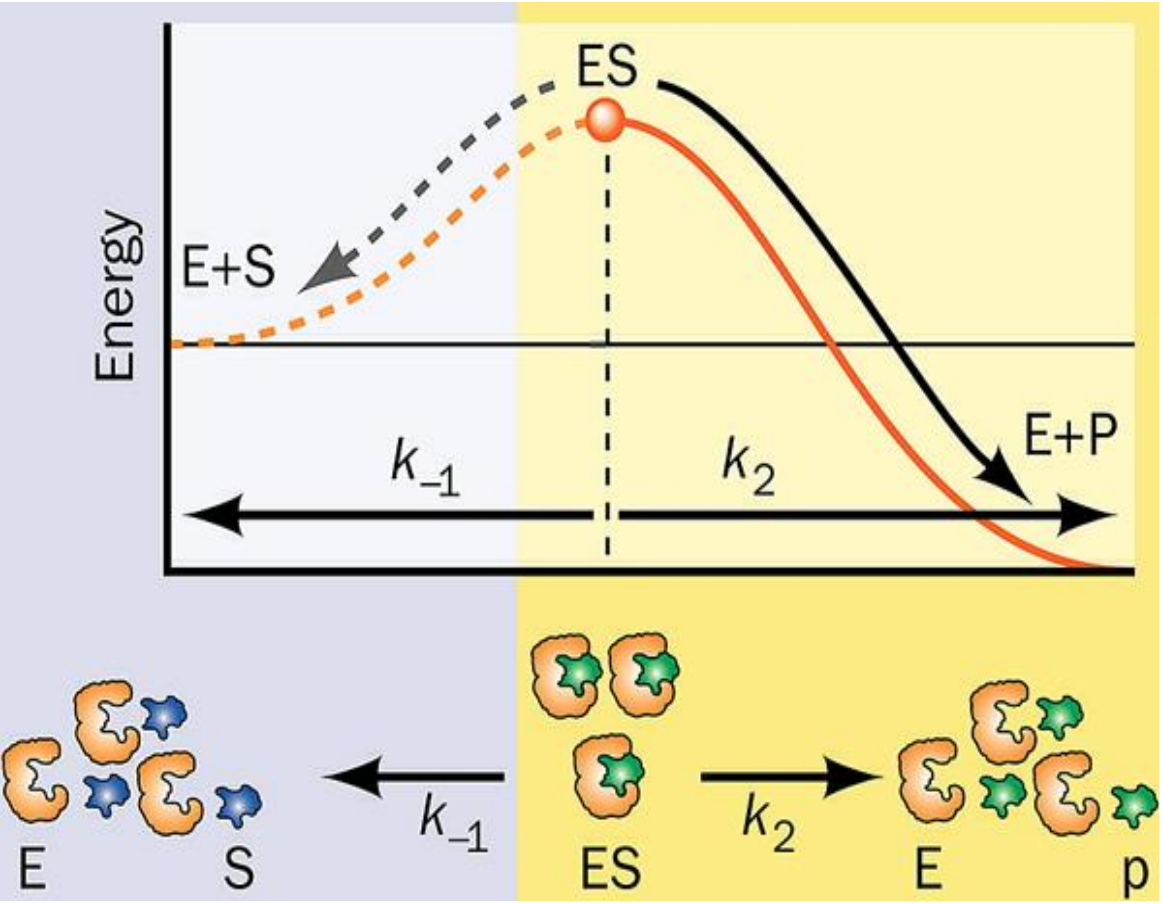




Chymotrypsin



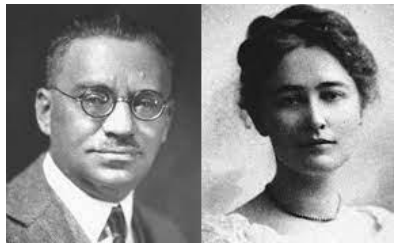
Cinética enzimática

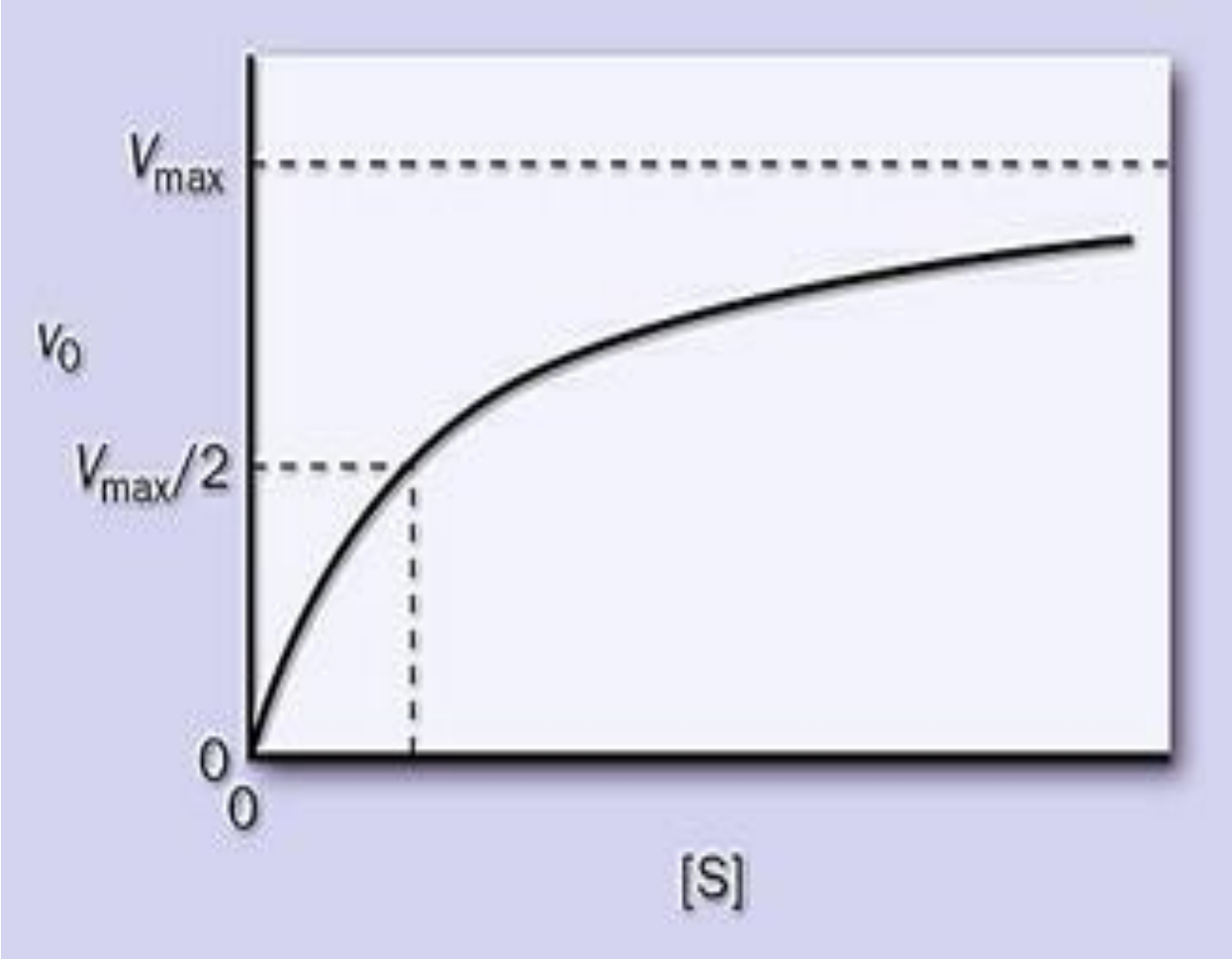


- Parte de la bioquímica que se encarga de estudiar las velocidades de reacción de las enzimas y cómo estas se modifican al variar ciertas condiciones

- Cinética de Leonor Michaelis y Maud Menten (1913)

$$E + S \leftrightarrow ES \rightarrow EP \rightarrow E + P$$



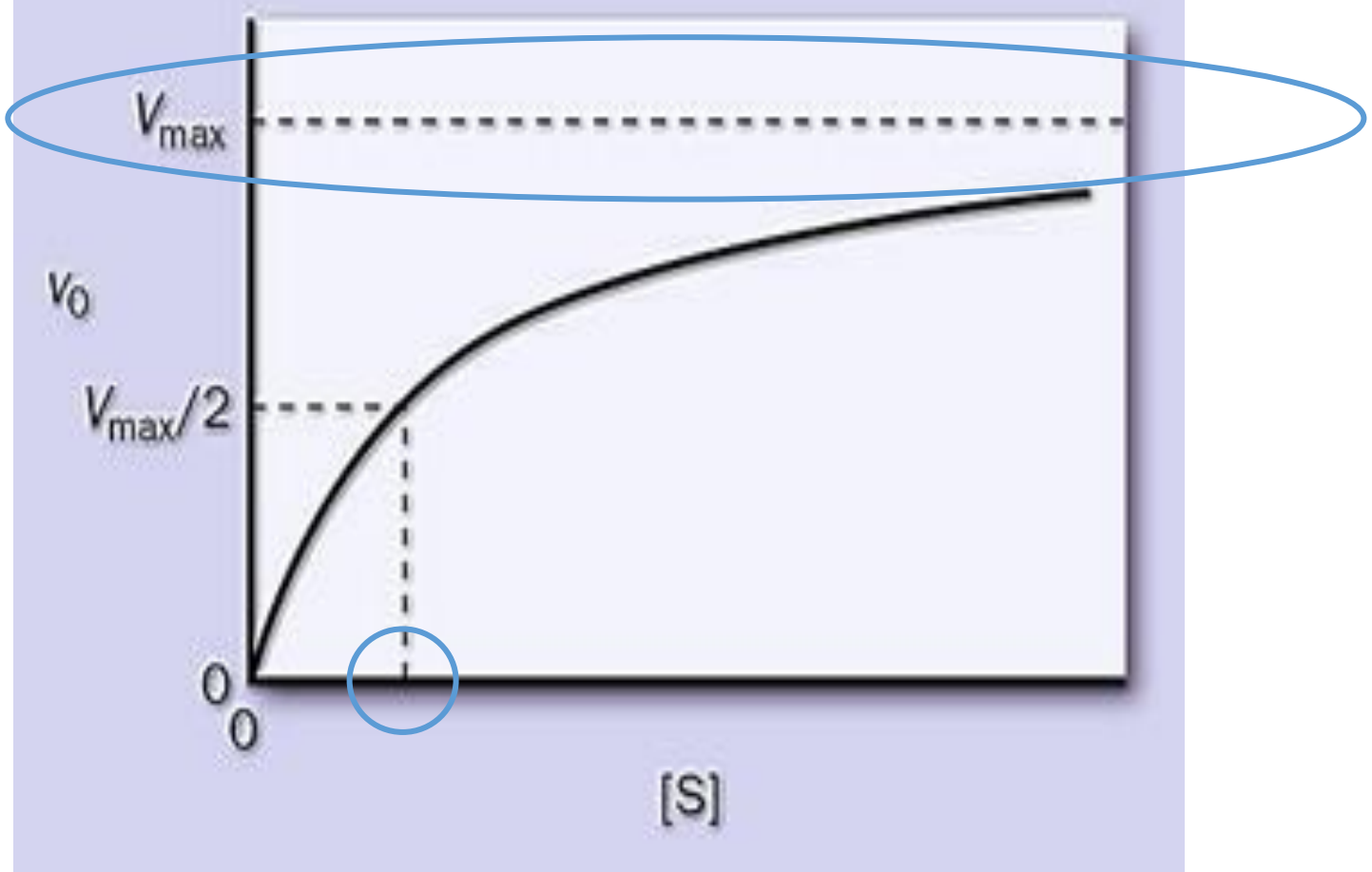


en donde:

v_0 es la velocidad inicial de la reacción
Vmáx es la velocidad máxima
Km es la [S] a la que se alcanza ½ de la Vmáx
[S] es la concentración de sustrato

$$\frac{k1+k2}{k1}$$

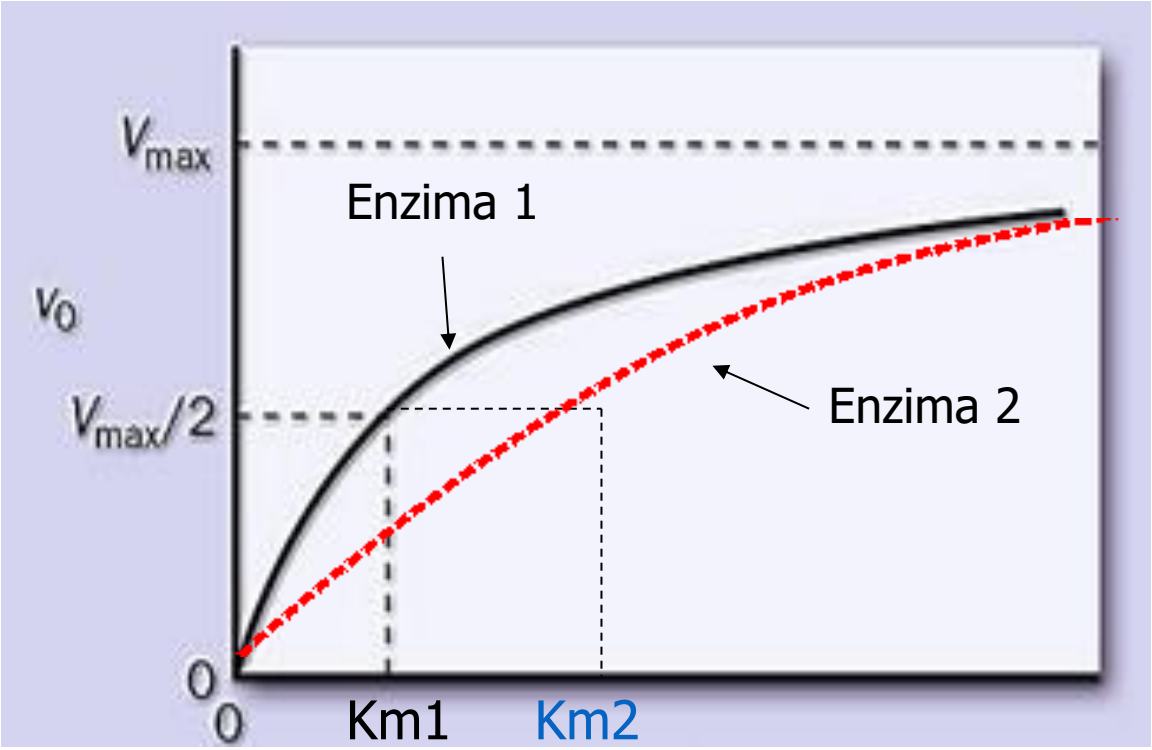
$$v_0 = \frac{Vmax[S]}{Km+[S]}$$



Vmax= velocidad cuando la enzima está completamente saturada con el sustrato
Punto de saturación de la enzima

K_M = "constante de Michaelis- Menten"
Concentración de sustrato a la cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima

KM



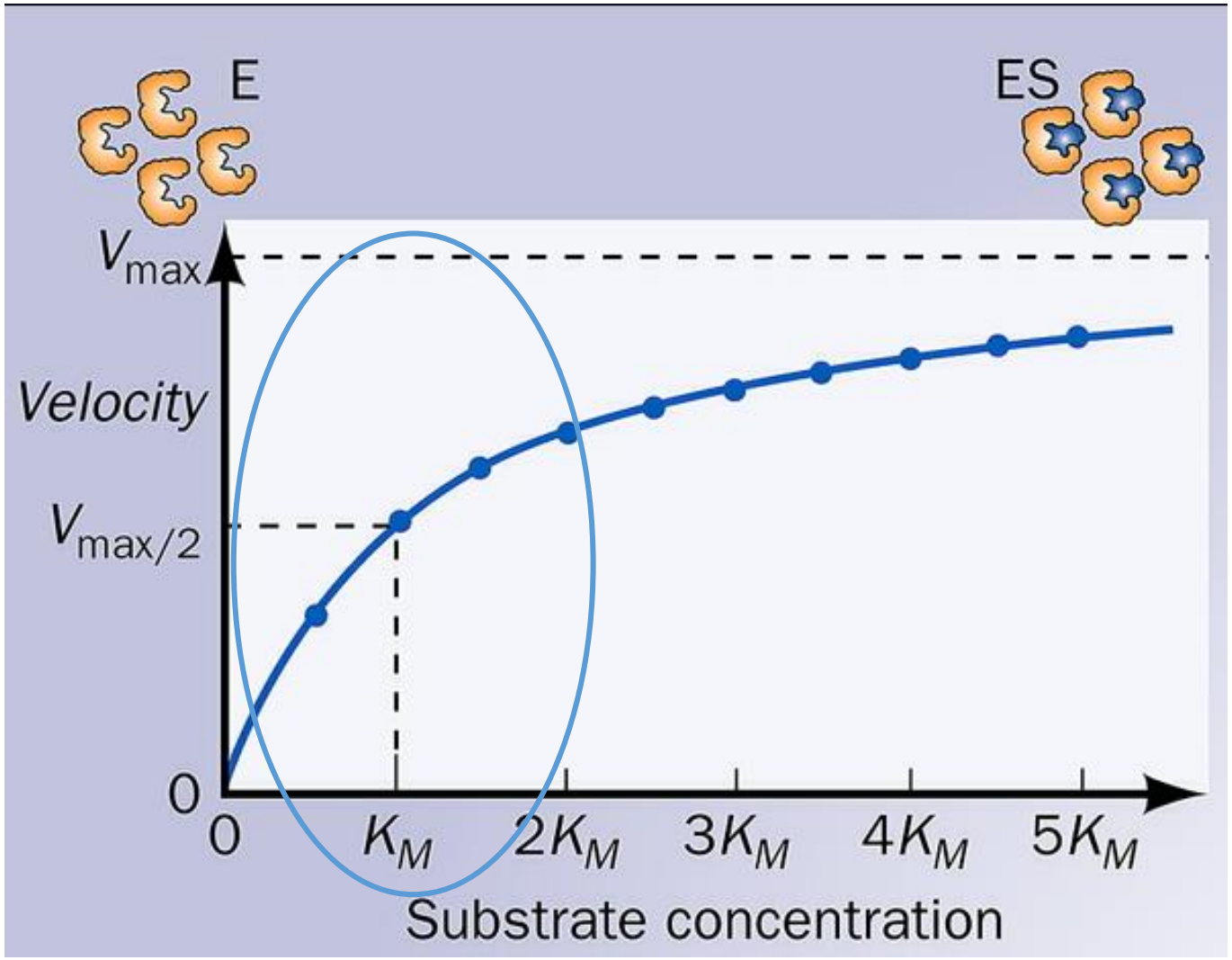
- Característica de enzima y sustrato particular
- Refleja la afinidad de la enzima por el sustrato
- La diferencia en el valor de la KM entre enzimas es importante para la regulación del metabolismo

K_m for Some Enzymes and Substrates

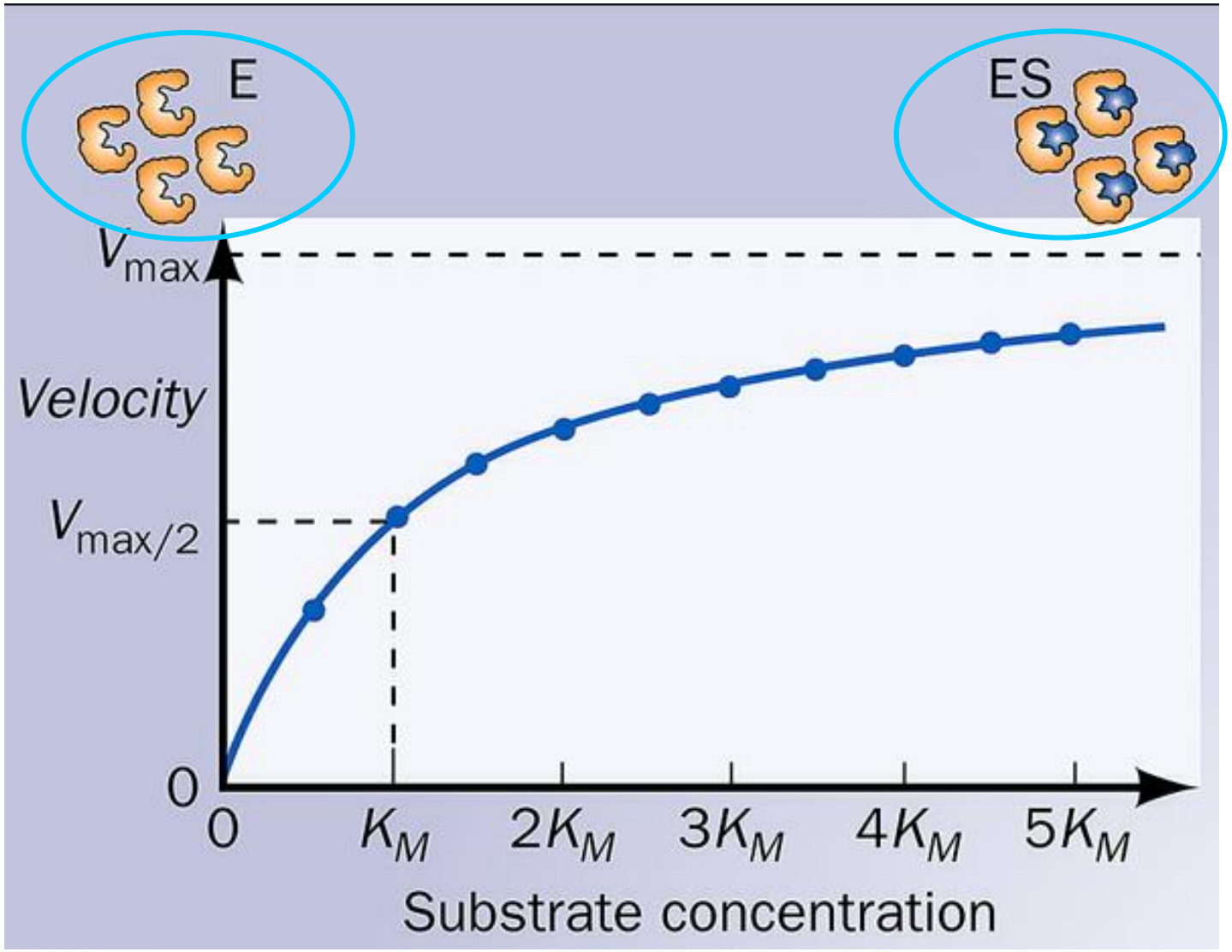
Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Catalase	H_2O_2	25
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Enzima 1: Alta afinidad por el S
Enzima 2: Baja afinidad por el S

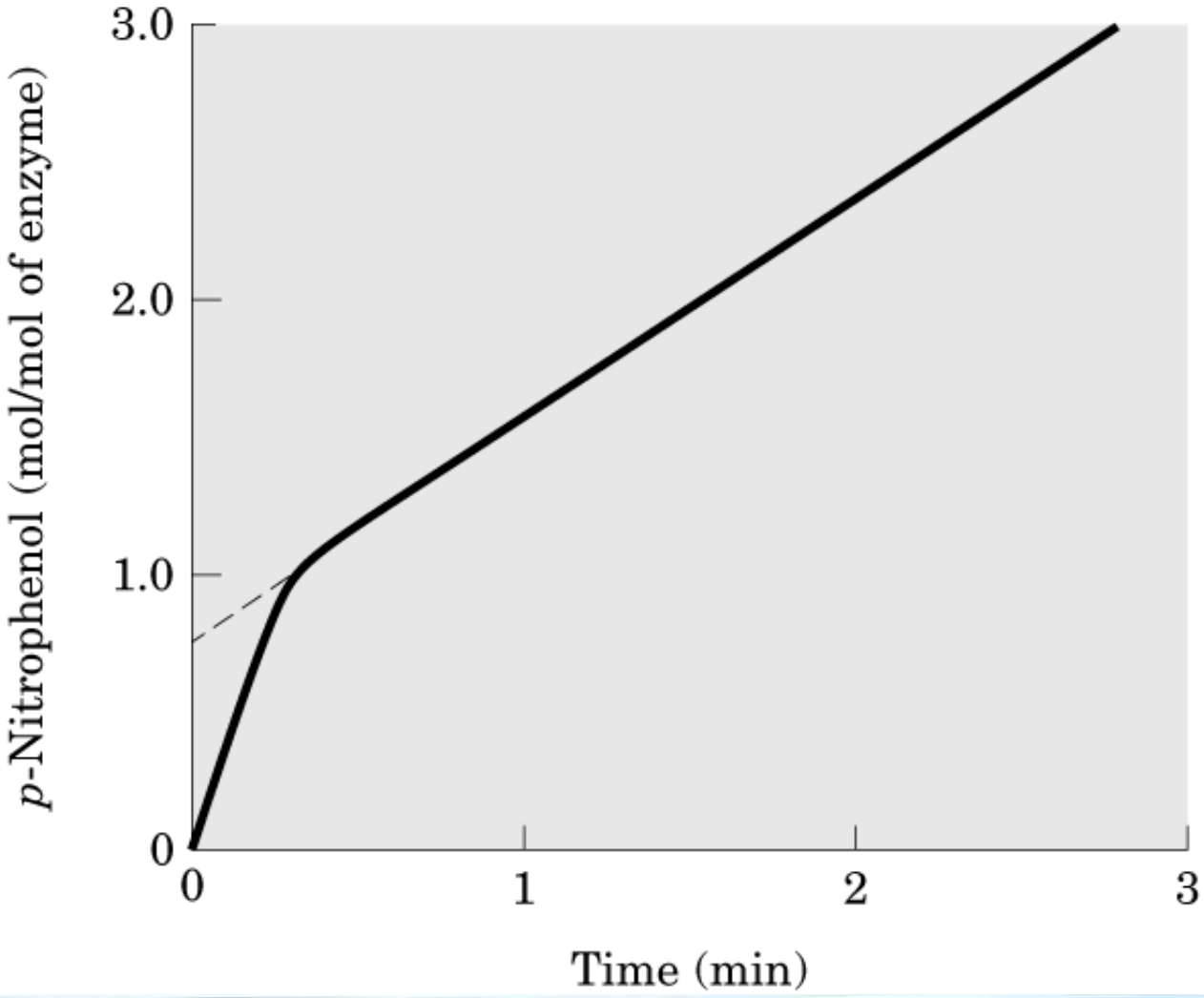
Efecto de la concentración del sustrato



Efecto de la concentración de enzima



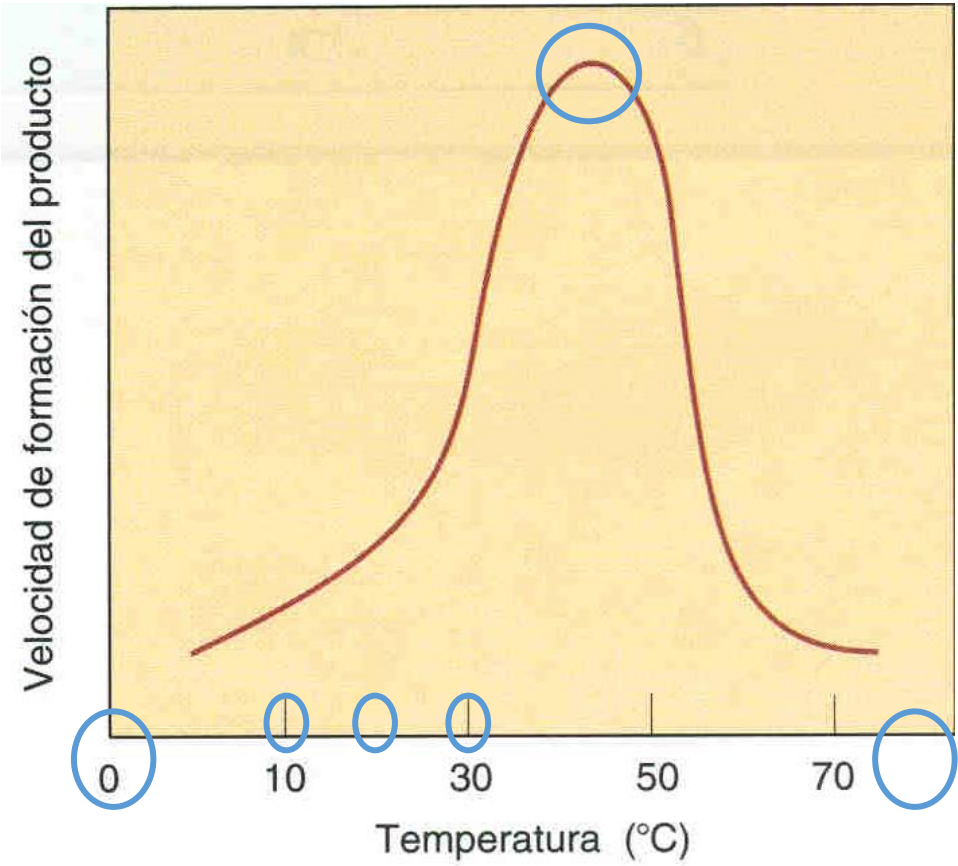
Efecto del tiempo de reacción

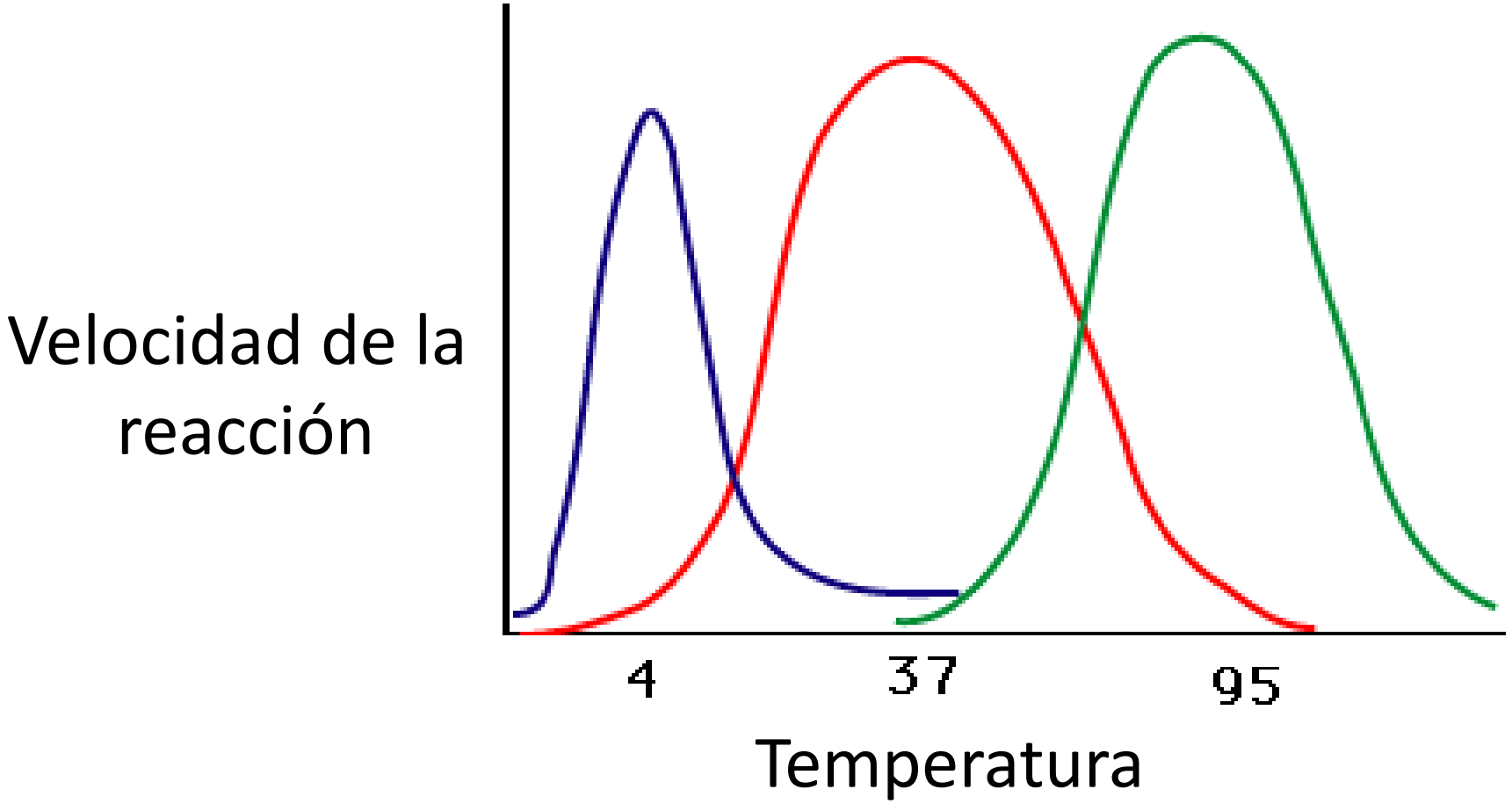


Efecto de la temperatura

- Incrementa el movimiento de las cadenas de aminoácidos y sus grupos laterales → aumenta la fuerza y frecuencia de las colisiones entre moléculas y su energía para sobrepasar la barrera energética

- A temperaturas muy elevadas, las colisiones son capaces de romper los puentes de H y las fuerzas de van der Waals → el arreglo tridimensional de la enzima se altera y pierde su estructura funcional

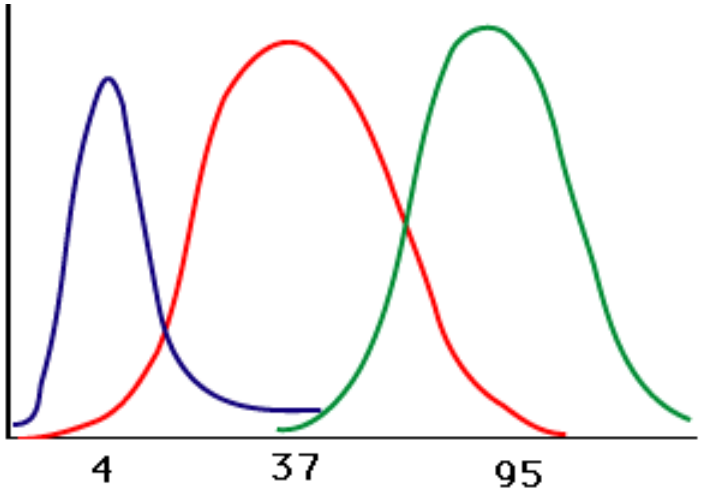



Velocidad de la reacción
4
37
95
Temperatura

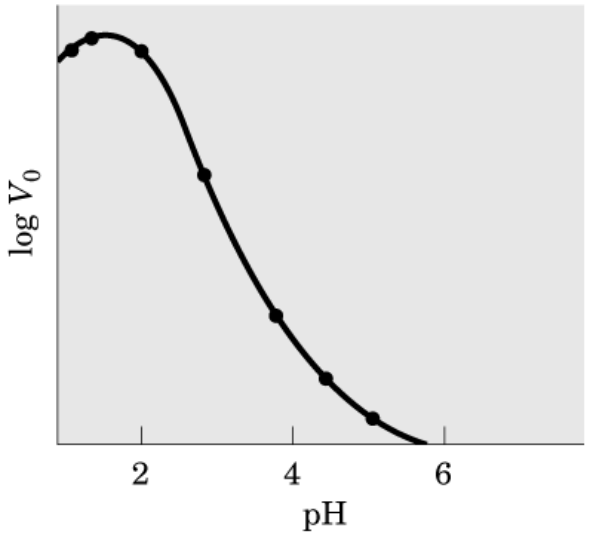
Efecto del pH

- Los cambios en el pH alteran la actividad enzimática porque modifican las cargas de los aminoácidos que no son neutros

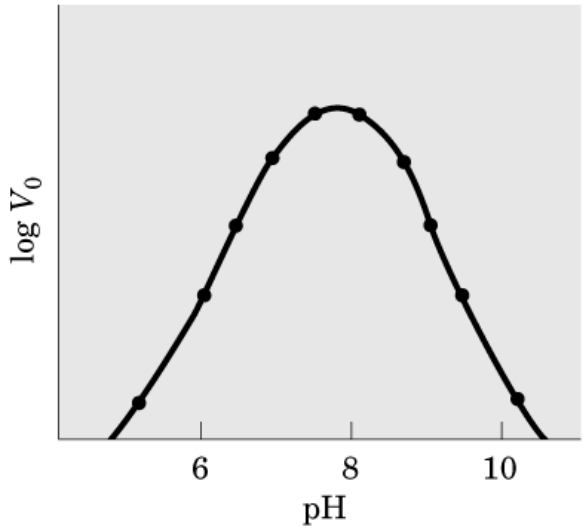
Velocidad de la reacción



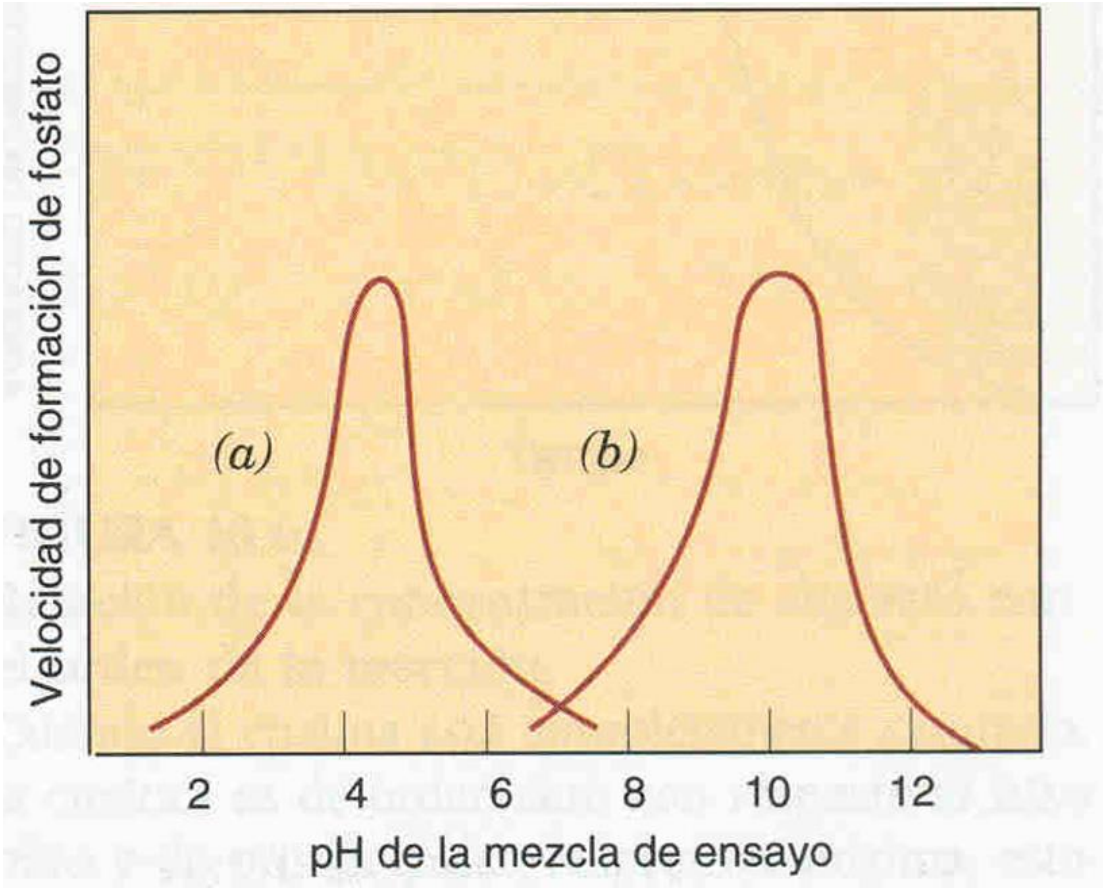
pH

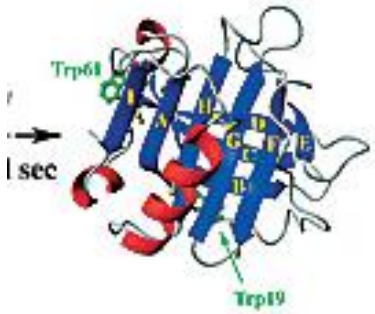


Pepsin
(a)



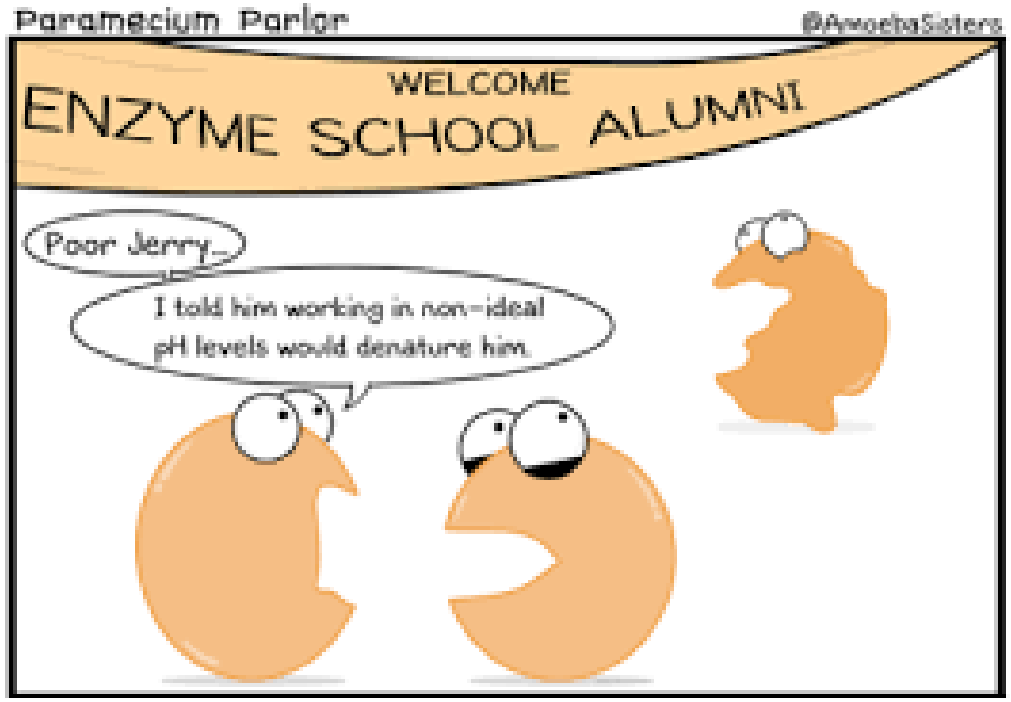
Glucose 6-phosphatase
(b)

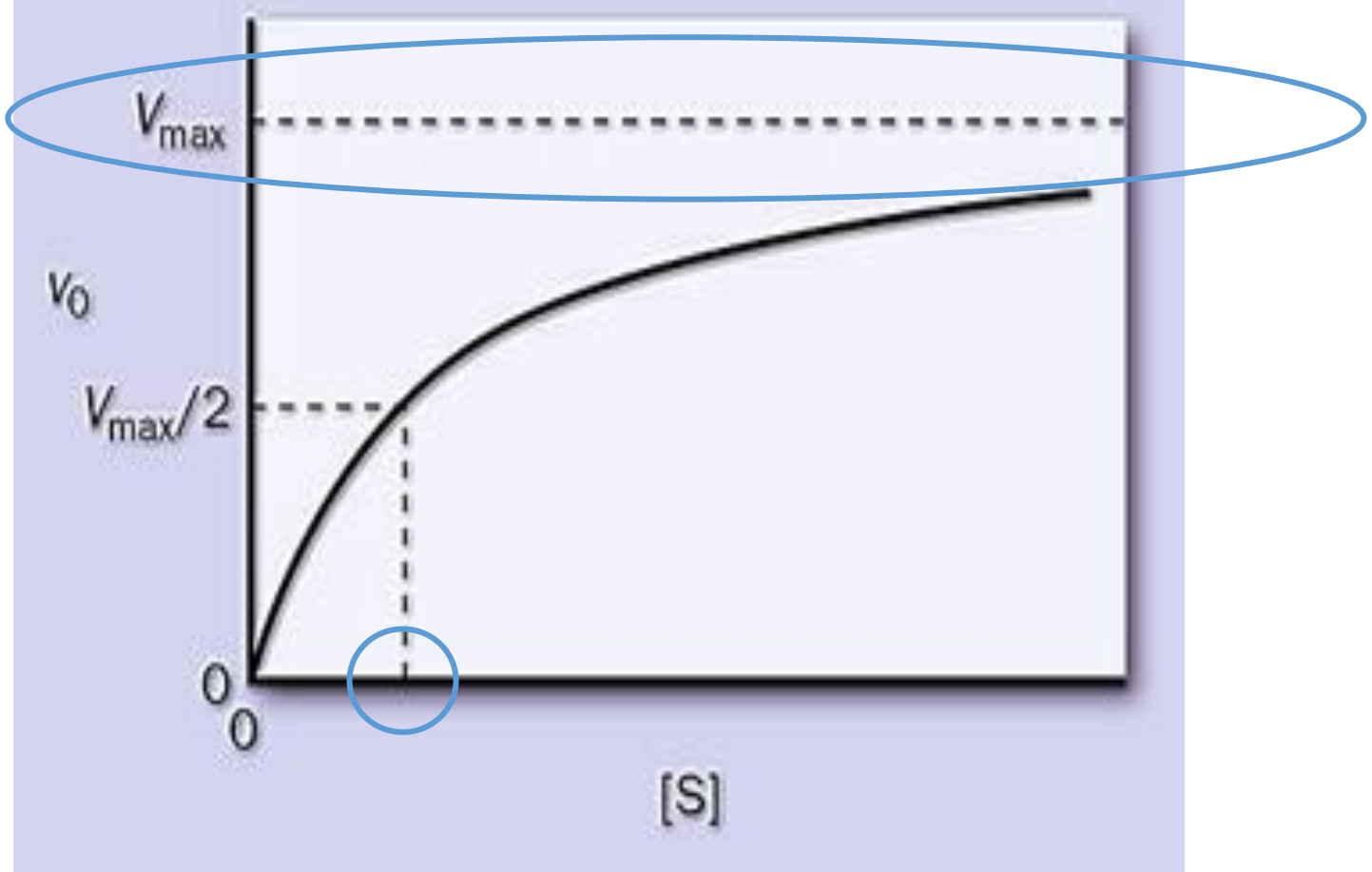




Forma nativa, pH óptimo

Desnaturalización de la enzima, pH extremos





Vmax= velocidad cuando la enzima está completamente saturada con el sustrato
Punto de saturación de la enzima

K_M = "constante de Michaelis- Menten"
Concentración de sustrato a la cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima

Transformación de la ecuación de Michaelis-Menten

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M + [S]}{V_{max}[S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}[S]} + \frac{[S]}{V_{max}[S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

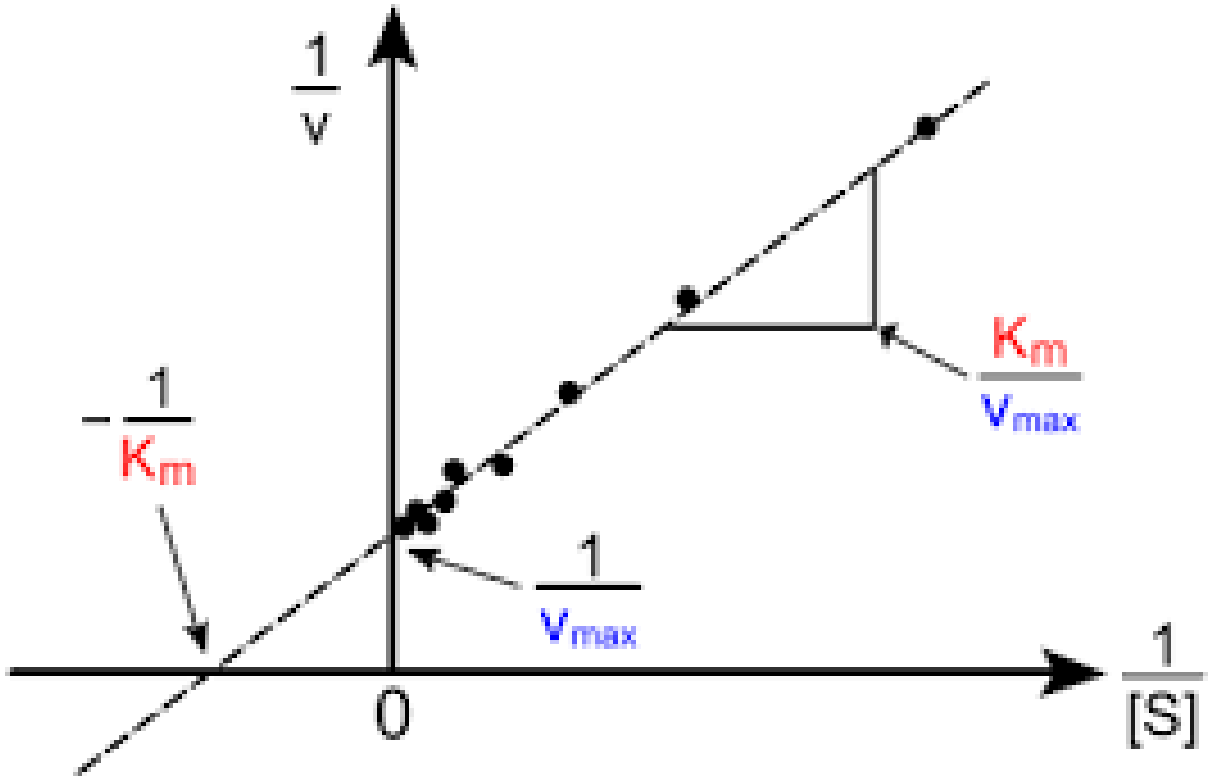
$$y = mx + b$$

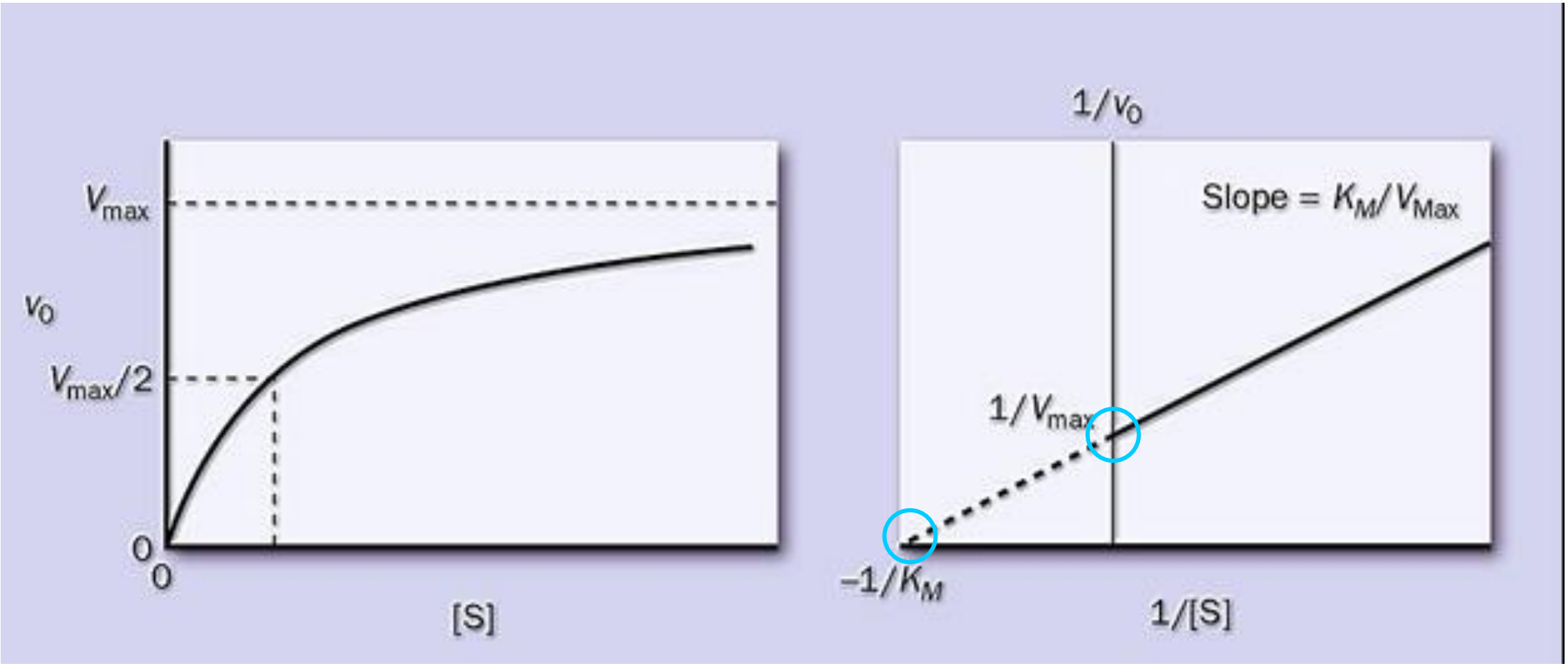
Representación de Lineweaver-Burk o de los dobles recíprocos

[S]	Act. Enz.	1/[S]	1/Act. Enz.

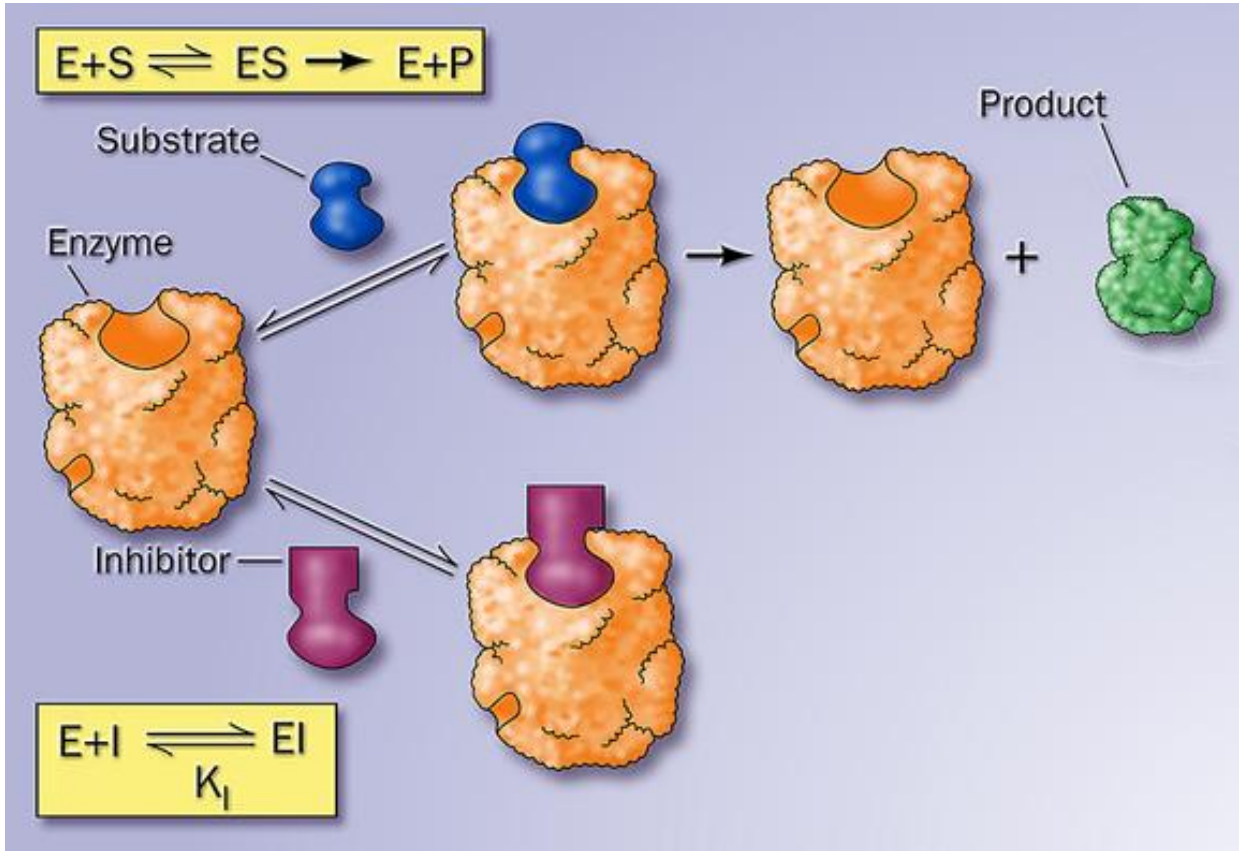
$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

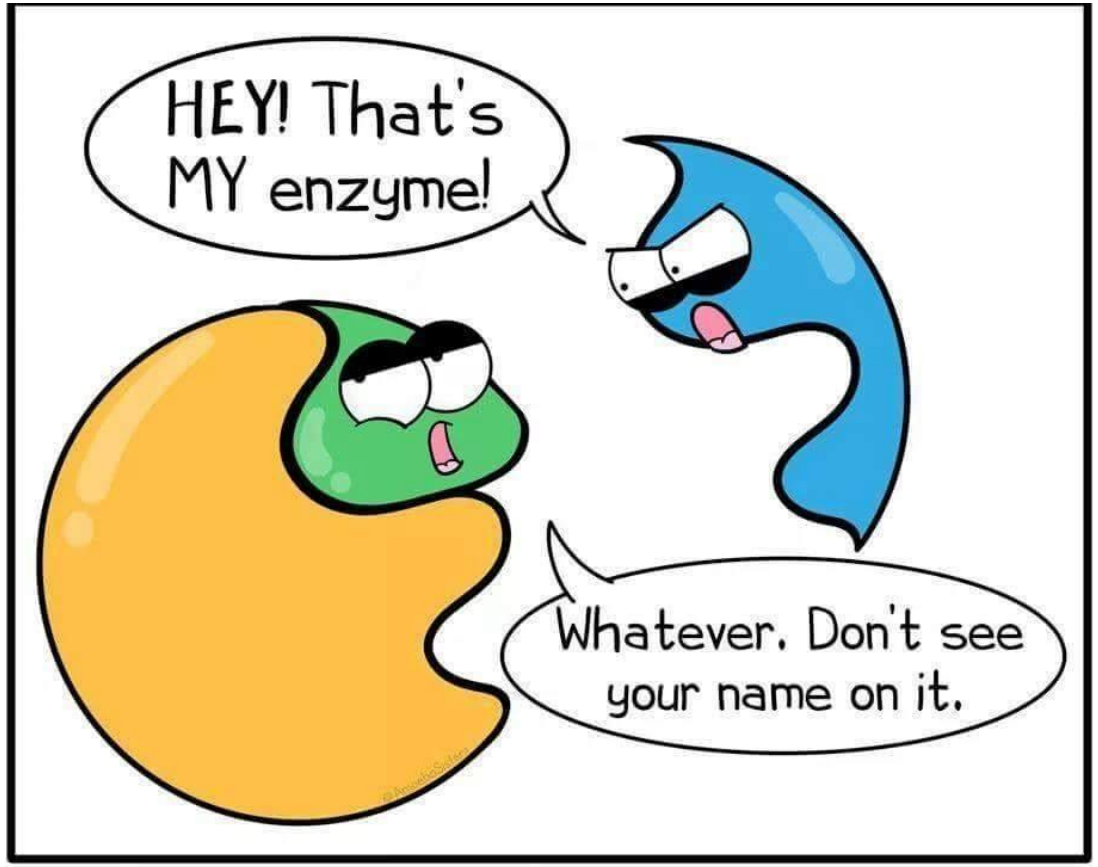
$$y = mx + b$$




V_{max}
v_0
$V_{max}/2$
0
0
[S]
$1/v_0$
Slope = K_M/V_{Max}
$1/V_{max}$
$-1/K_M$
1/[S]

Inhibición competitiva

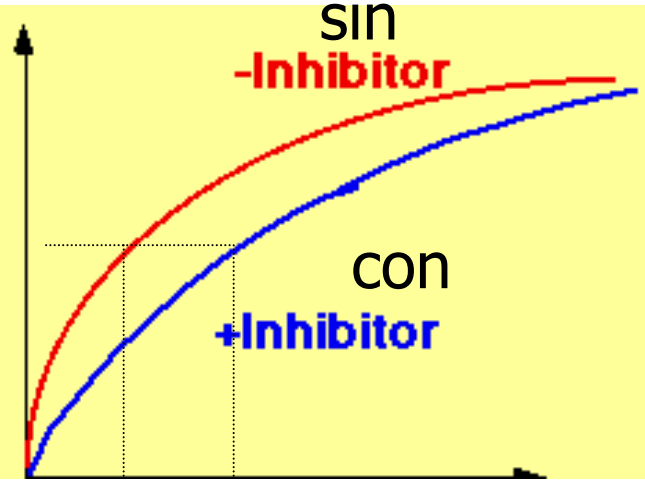




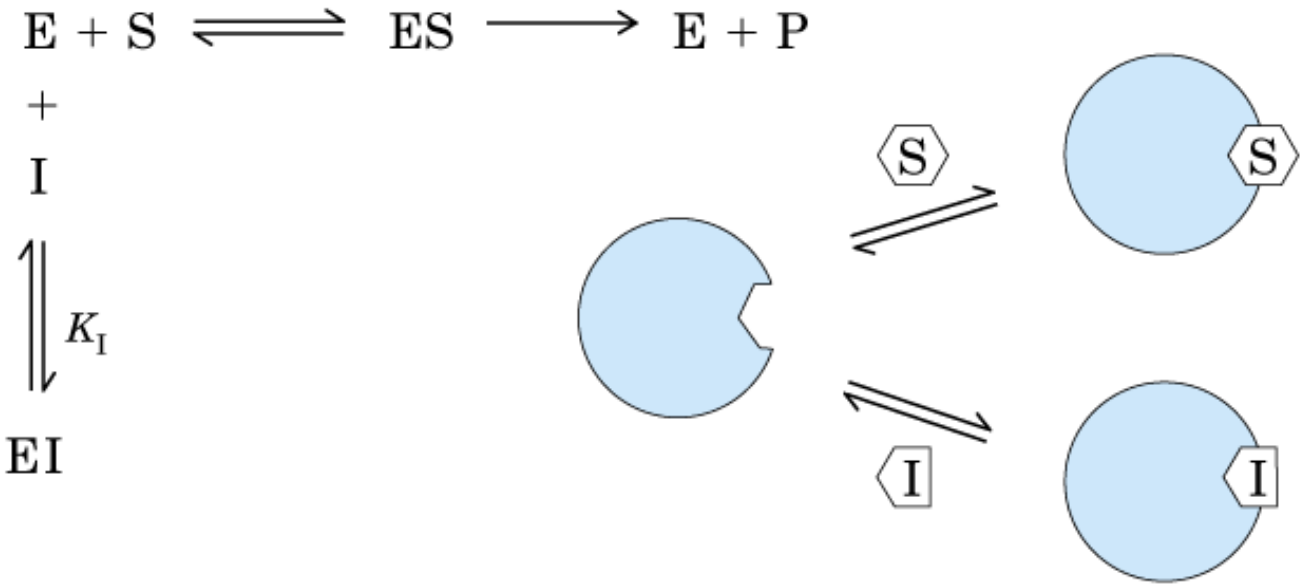
Competitive Inhibitors: If it fits, it sits.

Inhibición competitiva

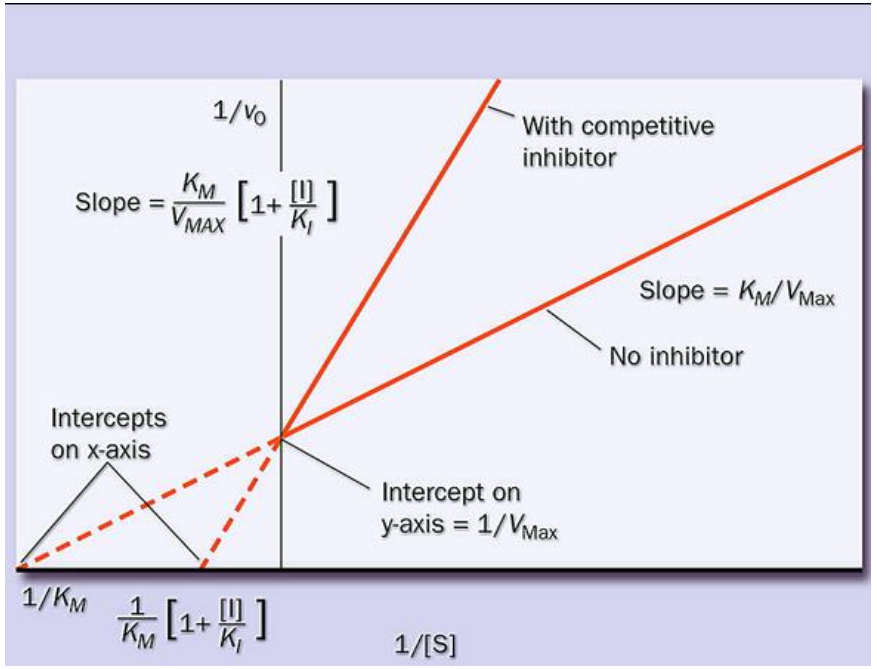
v



Sustrato

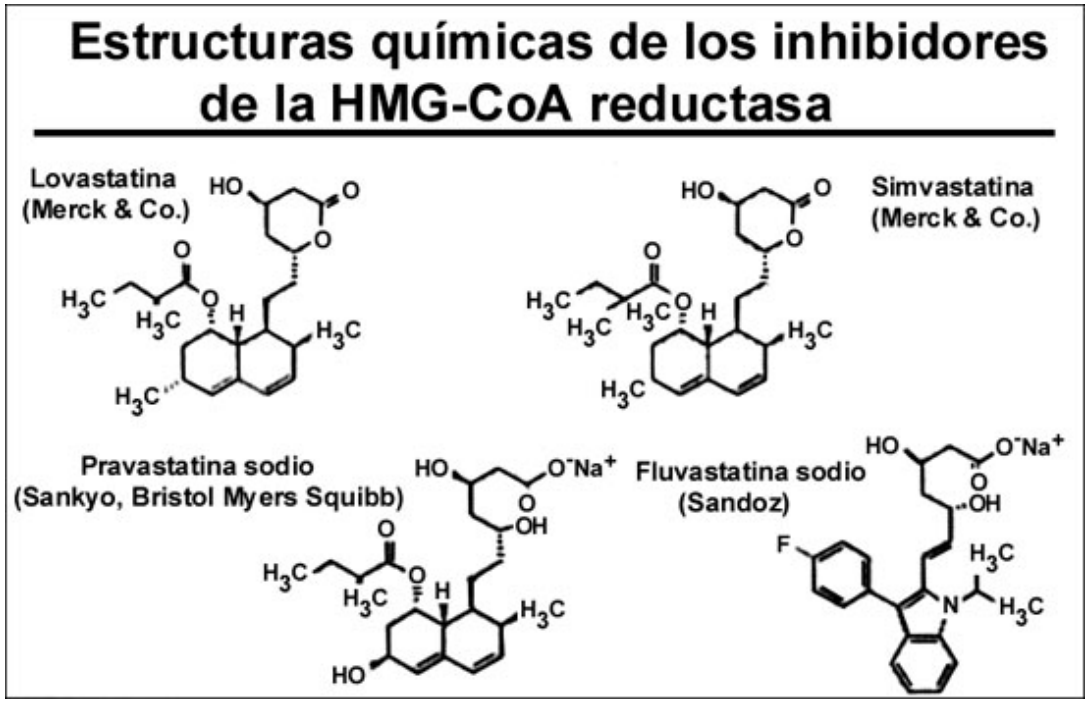


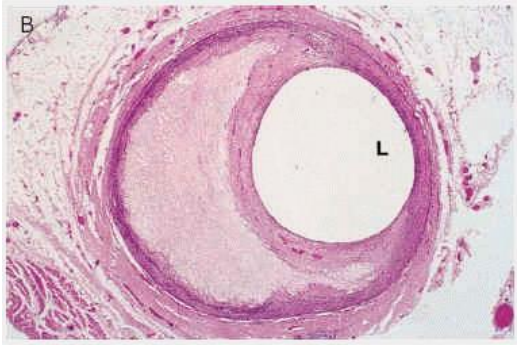
(a) Competitive inhibition

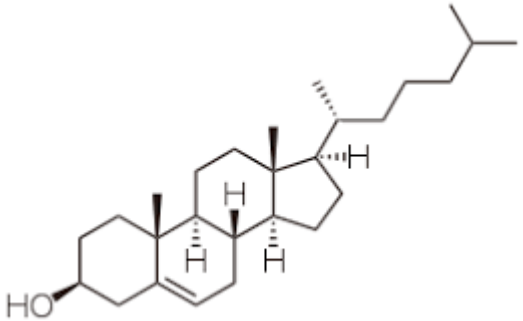


Estatinas

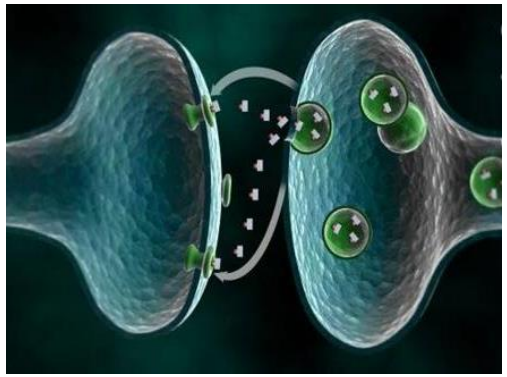
A


Estructuras químicas de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa
Lovastatina (Merck & Co.)
Simvastatina (Merck & Co.)
Pravastatina sodio (Sankyo, Bristol Myers Squibb)
Fluvastatina sodio (Sandoz)


B
L

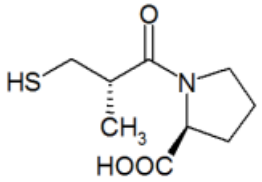


Inhibidores competitivos

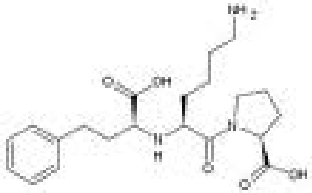


Inhibidores de recaptación (IR), ó bloqueadores de transportadores

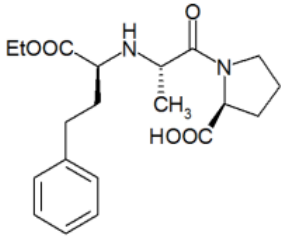
Inhibidores como fármacos



Captopril

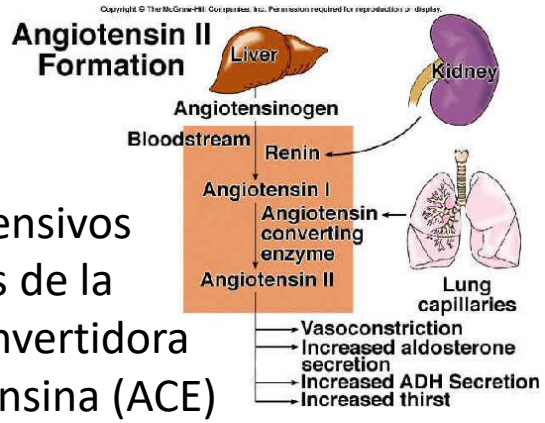


Lisinopril

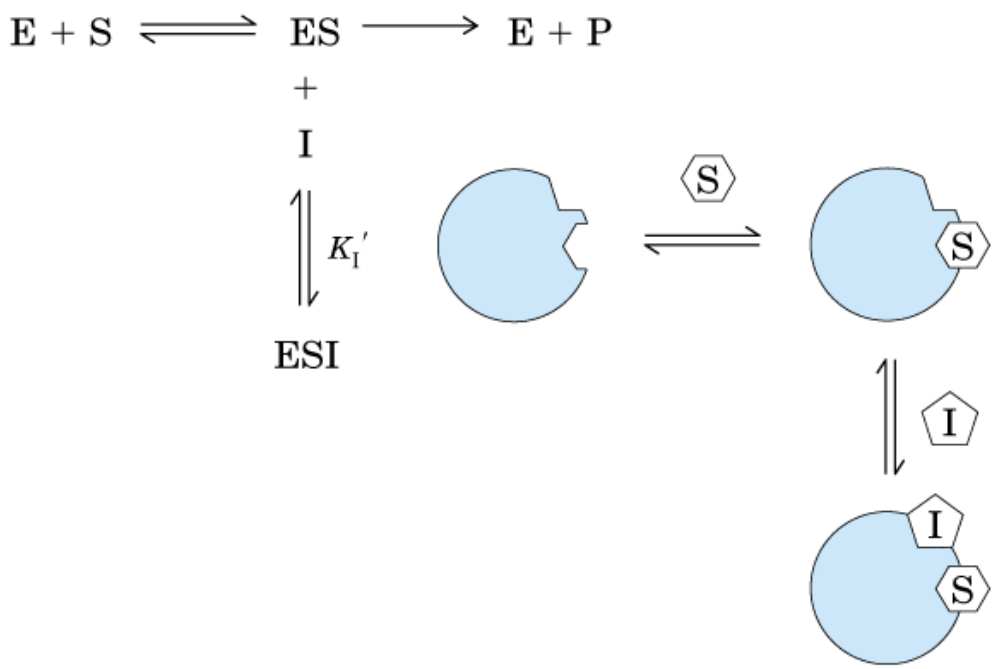


Enalapril

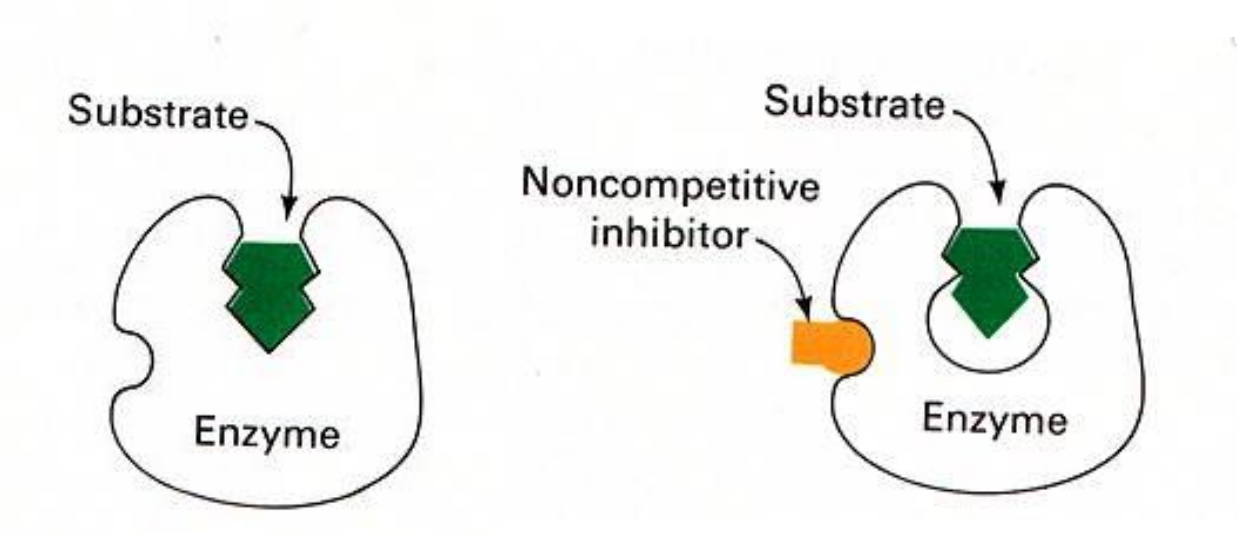
Antihipertensivos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE)

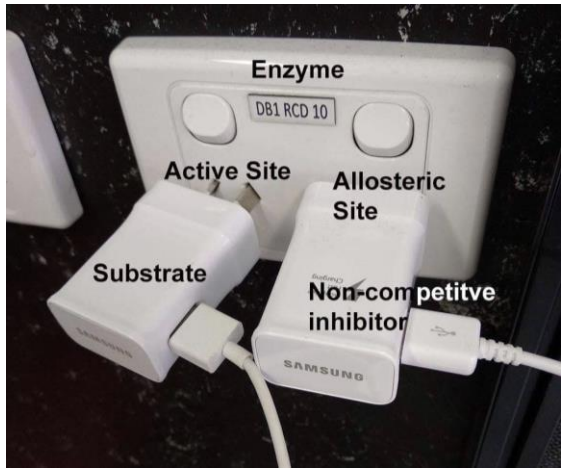


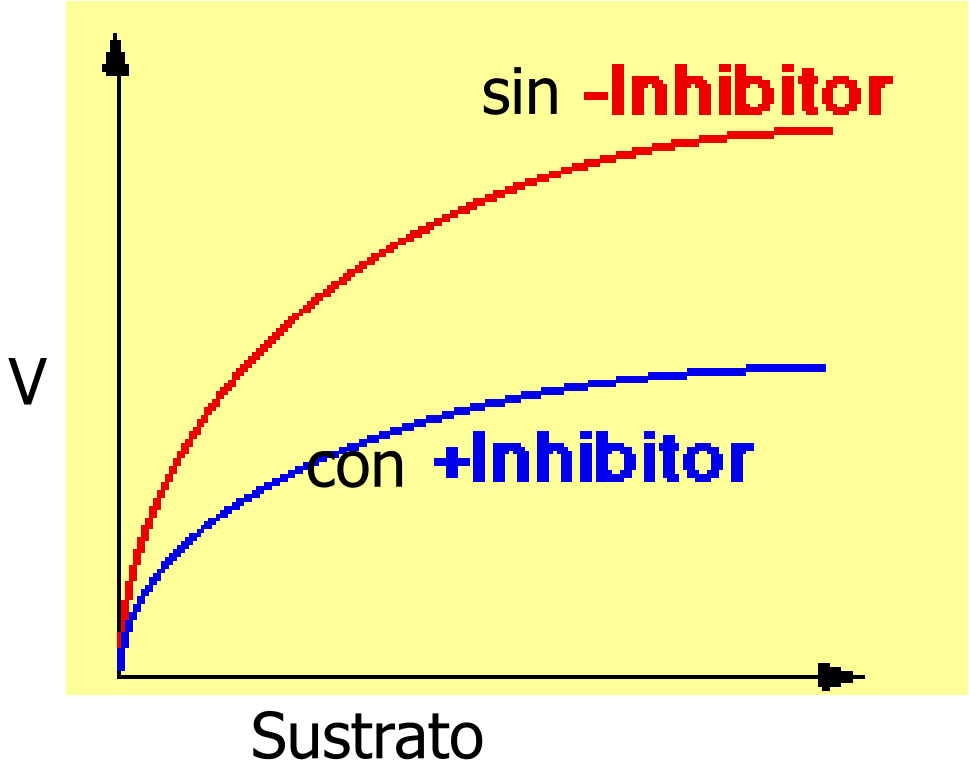
Inhibición NO competitiva

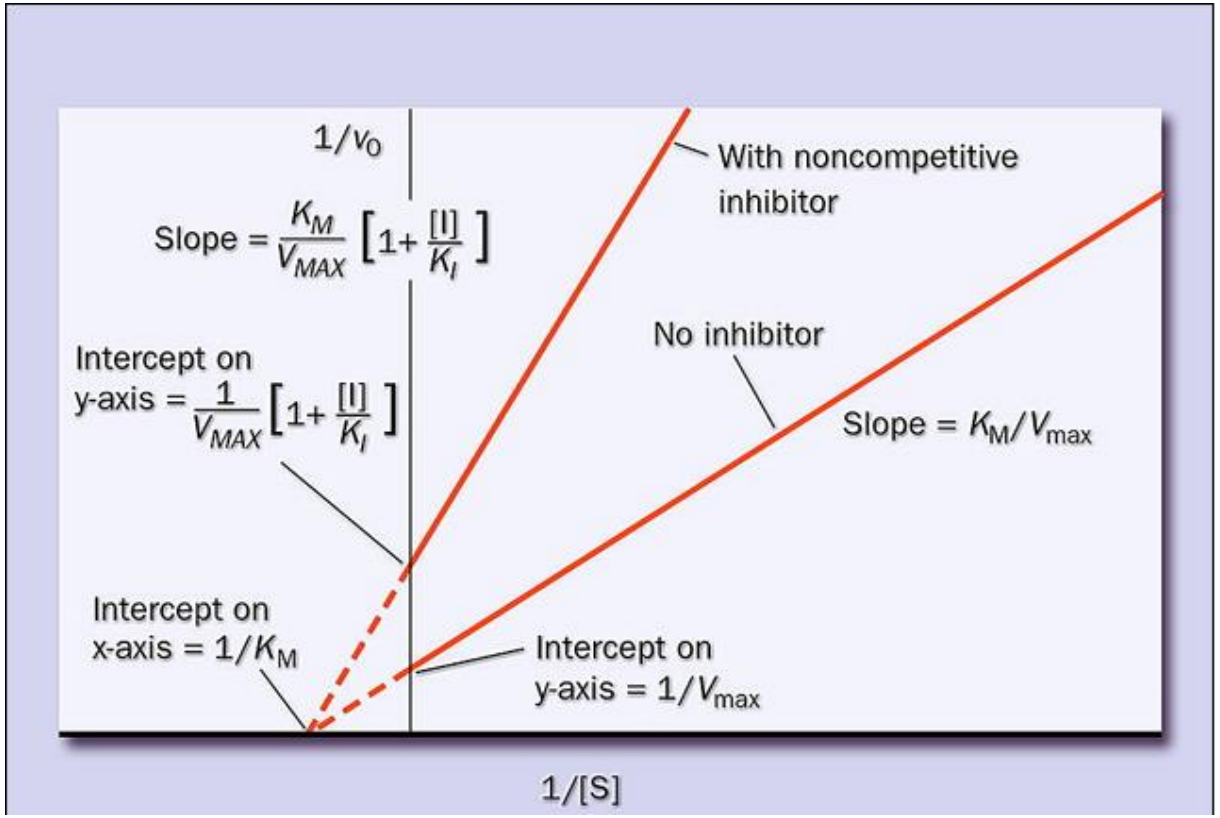


(b) Uncompetitive inhibition

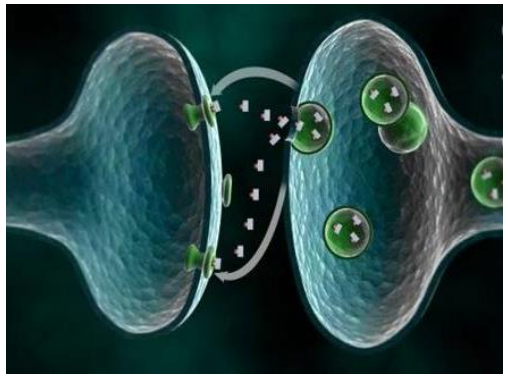


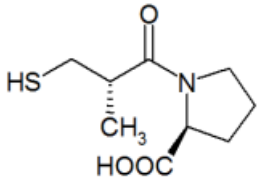



sin -Inhibitor
V
con +Inhibitor
Sustrato

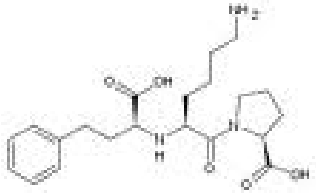

1/v0
Slope = KM/VMAX [1+ [I]/KI]
With noncompetitive inhibitor
No inhibitor
Intercept on y-axis = 1/VMAX [1+ [I]/KI]
Slope = KM/Vmax
Intercept on x-axis = 1/KM
Intercept on y-axis = 1/Vmax
1/[S]

Inhibidores no competitivos

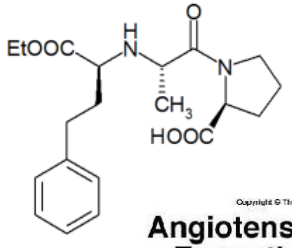




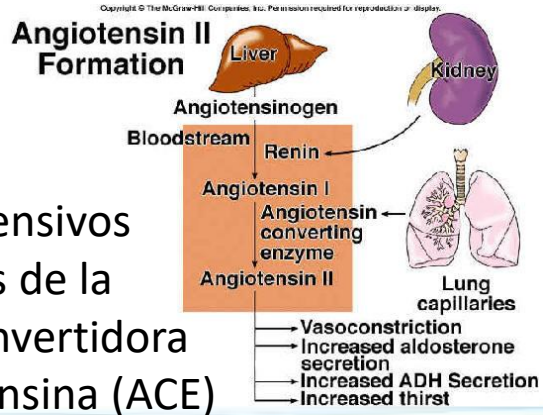
Captopril



Lisinopril



Enalapril



Antihipertensivos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE)

Inhibition Mechanism and Model of an Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Hexapeptide from Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

He Ni, Lin Li, Guang Liu, Song-Qing Hu*

Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Product Safety, College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong, China

Abstract

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) has an important function in blood pressure regulation. ACE-inhibitory peptides can lower blood pressure by inhibiting ACE activity. Based on the sequence of an ACE-inhibitory hexapeptide (TPTQQS) purified from yeast, enzyme kinetics experiments, isothermal titration calorimetry (ITC), and a docking simulation were performed. The hexapeptide was found to inhibit ACE in a non-competitive manner, as supported by the structural model. The hexapeptide bound to ACE via interactions of the N-terminal Thr1, Thr3, and Gln4 residues with the residues on the lid structure of ACE, and the C-terminal Ser6 attracted the zinc ion, which is vital for ACE catalysis. The displacement of the zinc ion from the active site resulted in the inhibition of ACE activity. The structural model based on the docking simulation was supported by experiments in which the peptide was modified. This study provides a new inhibitory mechanism of ACE by a peptide which broads our knowledge for drug designing against enzyme targets.

Citation: Ni H, Li L, Liu G, Hu S-Q (2012) Inhibition Mechanism and Model of an Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Hexapeptide from Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). PLoS ONE 7(5): e37077. doi:10.1371/journal.pone.0037077

Editor: Dermot Cox, Royal College of Surgeons, Ireland

Received January 28, 2012; **Accepted** April 13, 2012; **Published** May 14, 2012

Copyright: © 2012 Ni et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

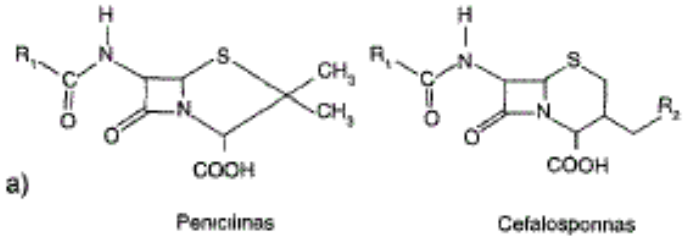
Funding: The authors are grateful for the financial support from the National Natural Science Fund of China (Grant No. 31171630), the Fundamental Research Funds for the Central Universities, SCUT (Grant No. 2012ZG0007), the Program for New Century Excellent Talents in University (Grant No. NCET-10-0362) and the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (Grant No. 2012CB720801). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: fesqhu@scut.edu.cn

Antibióticos B-lactámicos:

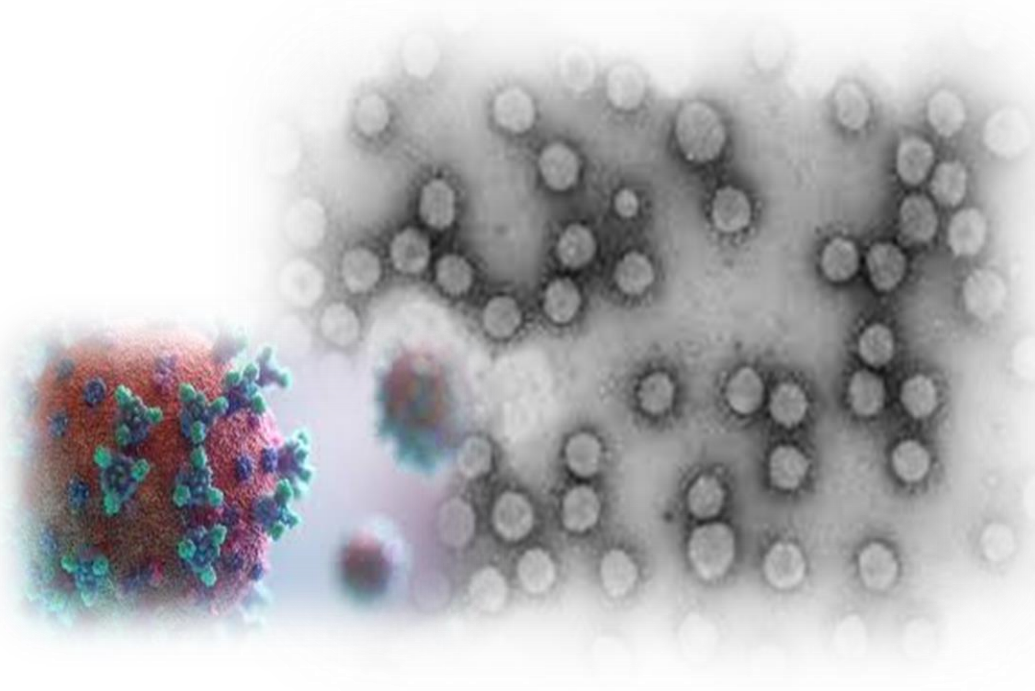
inhiben la formación de la pared bacteriana



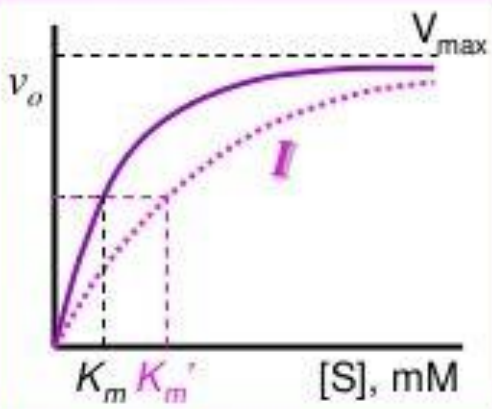
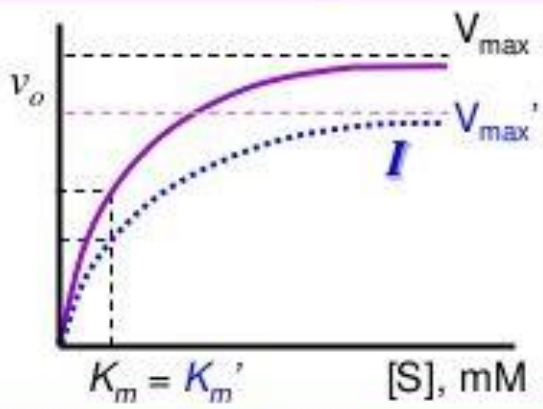
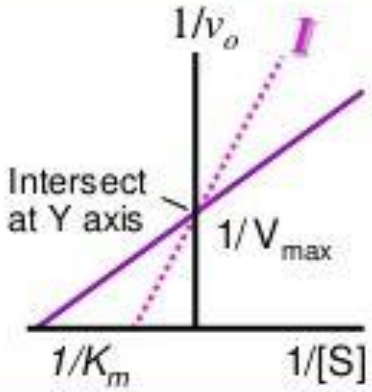
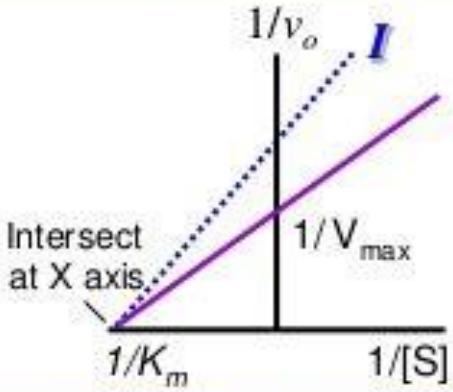
- Trisodium Phosphonoformate (phosphonoformic acid-PFA, ó Foscarnet)

- Inhibitor no-nucleósido de las DNA polimerasas de varios Virus Herpes y del virus que causa Hepatitis B, así como de la transcriptasa reversa del HIV

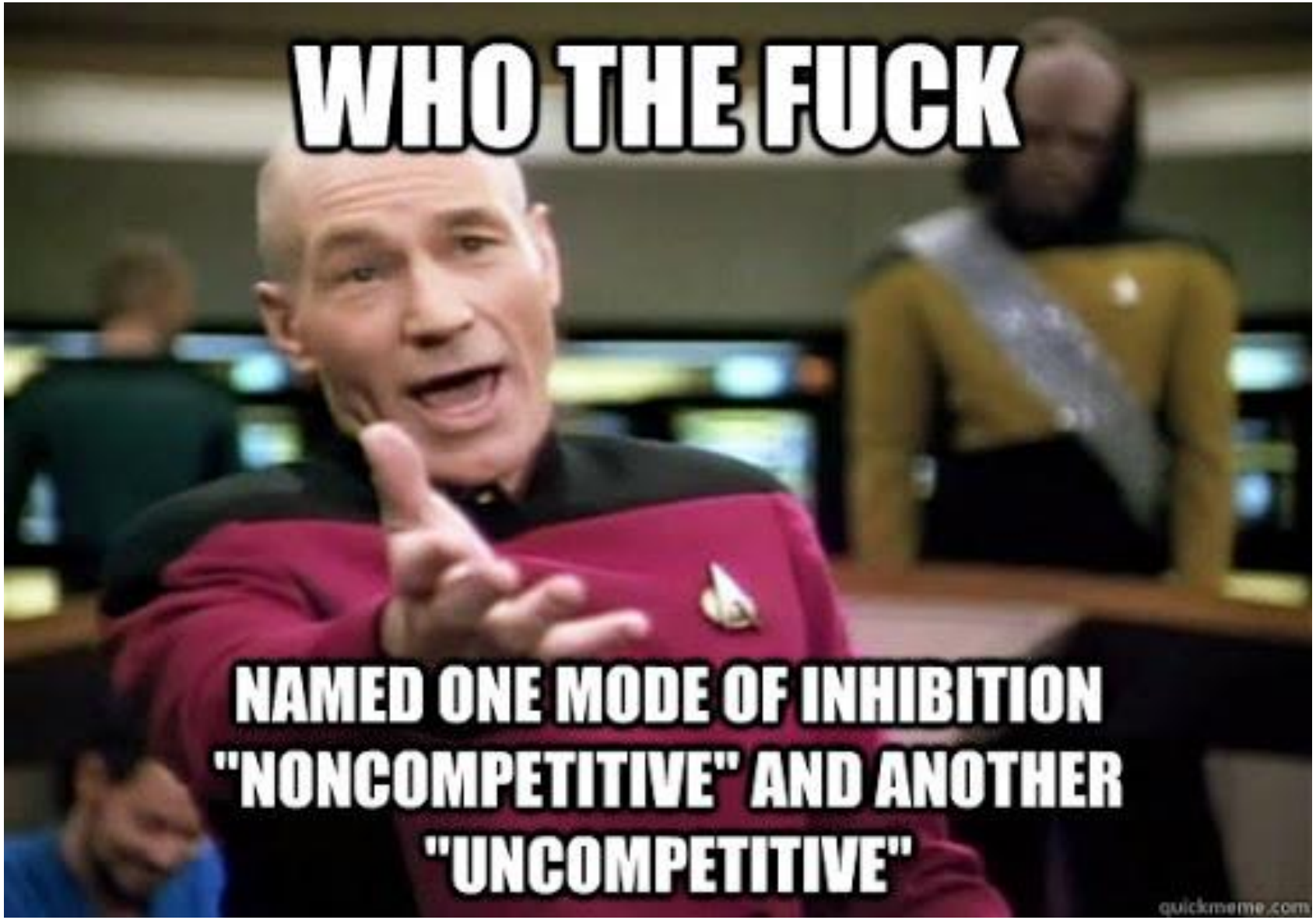
- Actúa a través de la inhibición no competitiva del sitio de unión del pirofosfato a la enzima



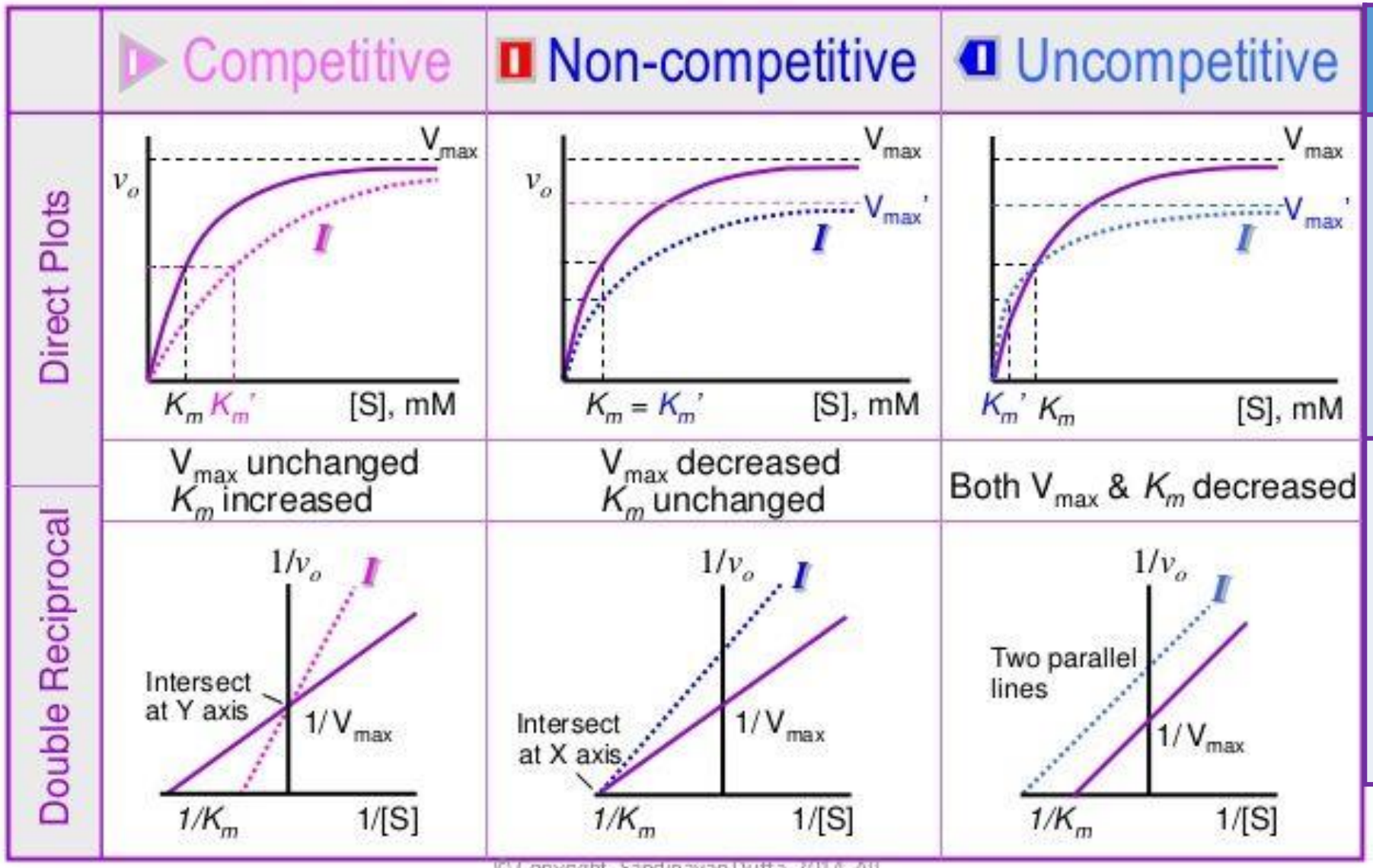
Enzyme Inhibition (Plots)

	Competitive	Non-competitive
Direct Plots		
	V_{max} unchanged K_m increased	V_{max} decreased K_m unchanged
Double Reciprocal		

© Copyright. Sandipayan Dutta. 2014. All rights reserved.


WHO THE FUCK
NAMED ONE MODE OF INHIBITION "NONCOMPETITIVE" AND ANOTHER "UNCOMPETITIVE"
quickmeme.com

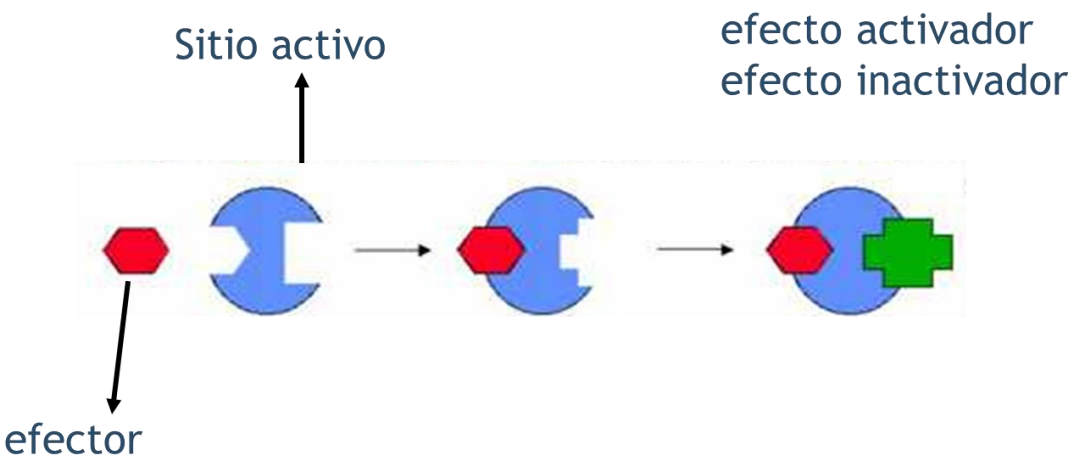
Enzyme Inhibition (Plots)

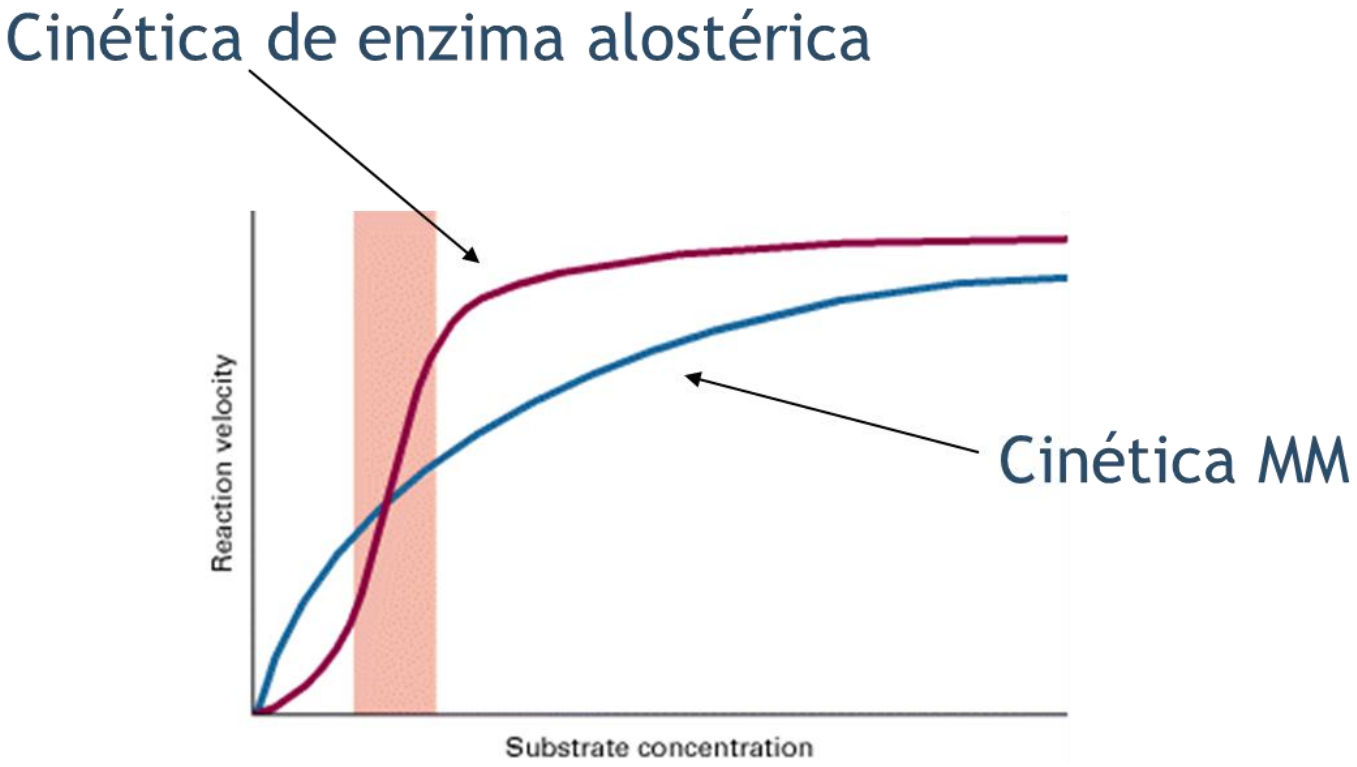


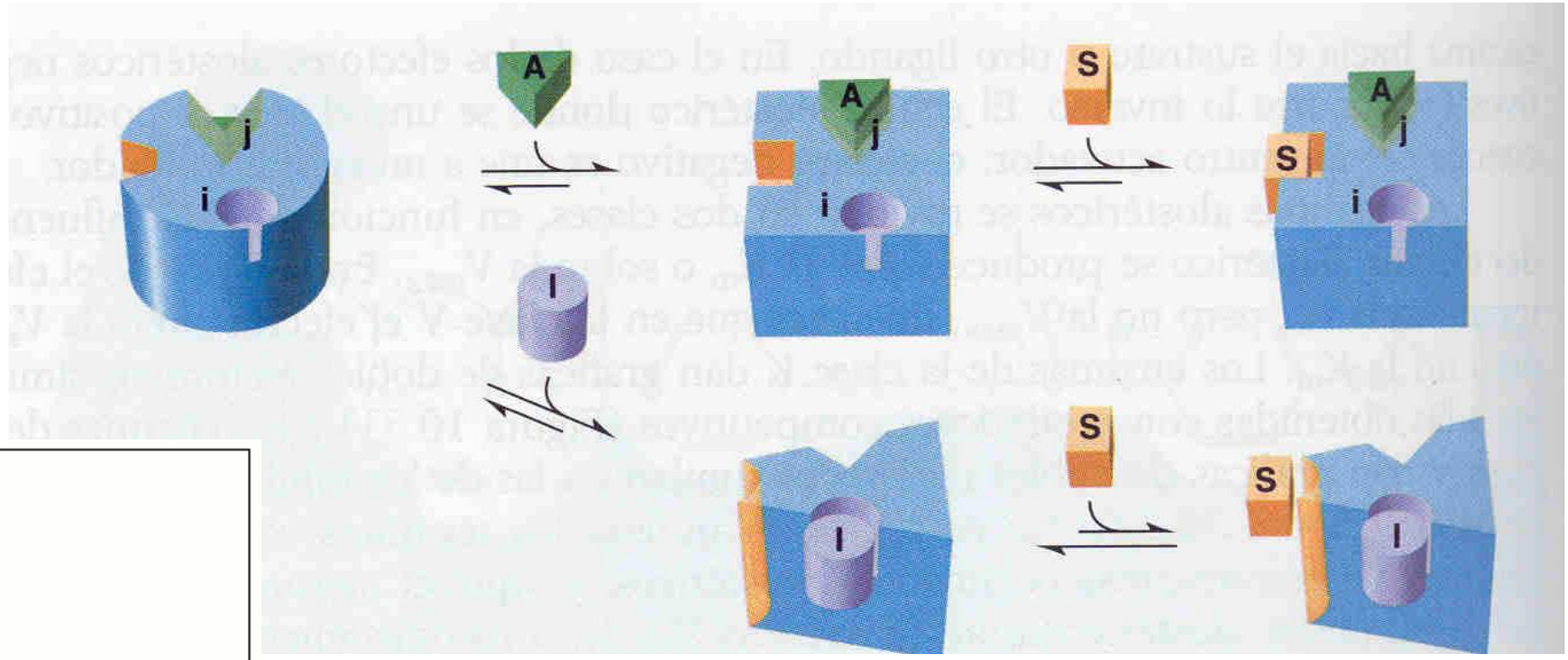
© Copyright. Sandipayan Dutta. 2014. All rights reserved.

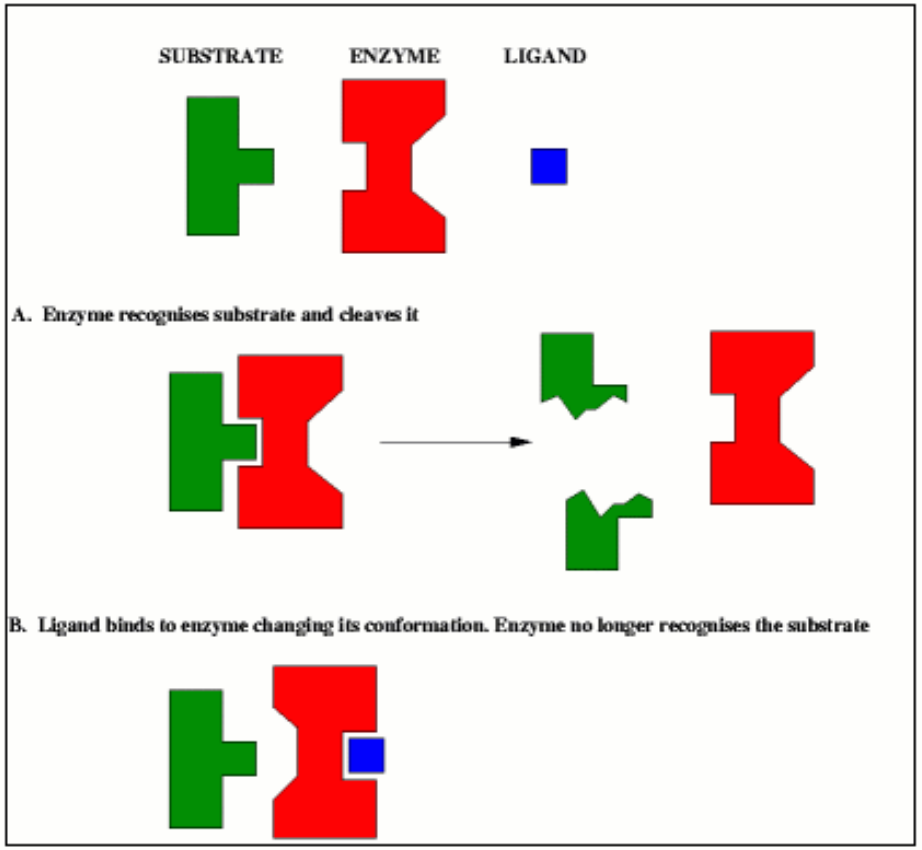
Venenos enzimáticos
Se une a la enzima mediante enlaces(s) covalente(s) (generalmente en el sitio activo), desnaturalizándola
Ejemplos: - Gas nervioso - Penicilina

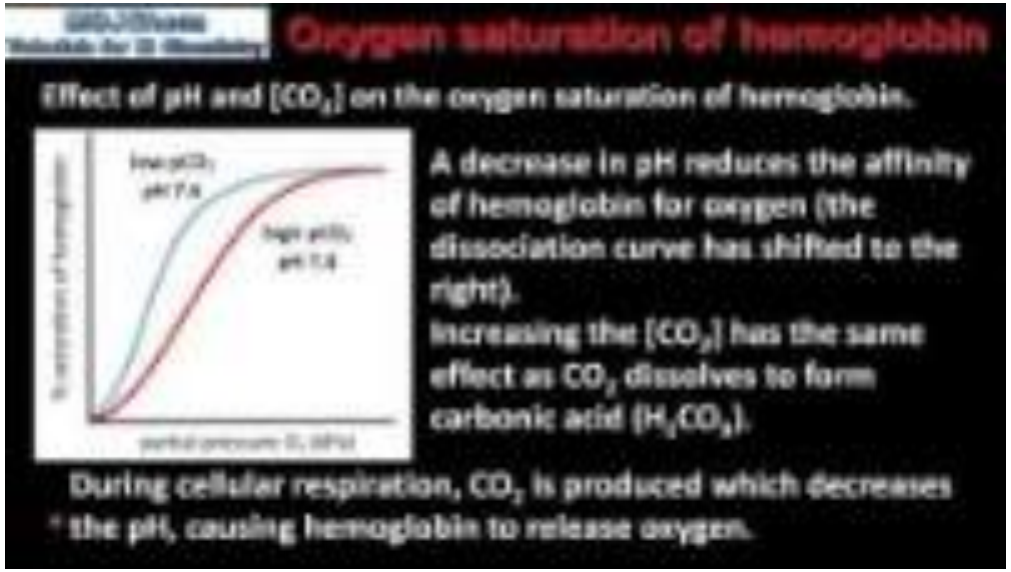
Enzimas alostéricas



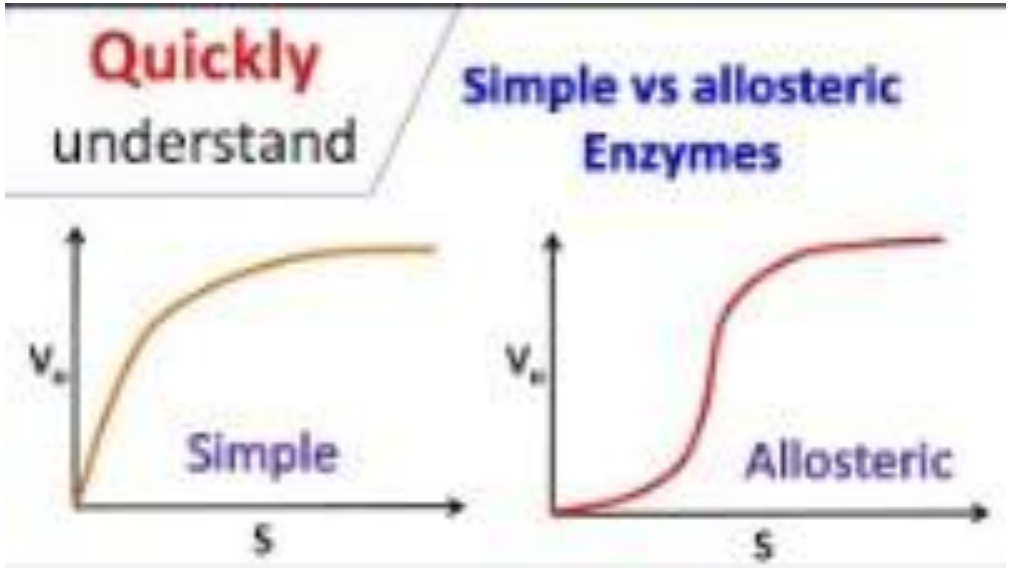



A
j
i
S
A
j
i
S
A
j
i
I
S
I
S
I


SUBSTRATE
ENZYME
LIGAND
A. Enzyme recognises substrate and cleaves it
B. Ligand binds to enzyme changing its conformation. Enzyme no longer recognises the substrate



https://www.youtube.com/watch?v=_Plqwfr-DH0&t=108s



https://www.youtube.com/watch?v=gKIuolXzpLk&t=78s

https://www.youtube.com/watch?v=UWrJssS76XE&t=364s

Isoenzimas

- Catalizan la misma reacción, pero tienen diferentes propiedades físicas

Secuencia de AA

Afinidad por el sustrato

V máxima

Propiedades reguladoras

Ej: Creatina Kinasa: CK1: BB, CK2 MB, CK3 MM

Enzimología clínica

En las pruebas de laboratorio

Ej: Prueba de Trinder (CHO, Prot, Ács. Grasos)

En las muestras biológicas

Ej: Fosfatasas en daño hepático y óseo, CK daño cardiaco

- Para medir la cantidad de enzima en una muestra se establece la velocidad de la reacción catalizada por ella (la velocidad es proporcional a la cantidad de enzima presente)

- Dado que es difícil determinar el número de moléculas o la masa de la enzima, los resultados se expresan en “Unidades enzimáticas”

- UI= actividad enzimática que permite transformar 1 *µmol de sustrato en producto por minuto (en las condiciones específicas del experimento)*